

УДК 616. 379 – 008.64:616. 344–092]–092.9

А. С. Деген
О. М. Камишиний

Запорізький державний медичний
університет

ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ НА ЕКСПРЕСІЮ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ФАКТОРУ NF-κB В ЛІМФОЇДНИХ СТРУКТУРАХ КЛУБОВОЇ КИШКИ ЩУРІВ

Ключові слова: діабет, *Nf-κB*,
кишково-асоційована лімфоїдна
тканина

Резюме. Досліджувався вплив експериментального цукрового діабету на інтенсивність експресії транскрипційного фактору *NF-κB* імунними клітинами клубової кишки. Для визначення *NF-κB*⁺-клітин було застосовано метод непрямої імуофлуоресценції з використанням моноклональних антитіл до *NF-κB* щура. Встановлено, що розвиток діабету супроводжувався збільшенням кількості *Nf-κB*⁺-клітин на 46-74% ($p < 0,05$), а також призводив до зростання концентрації *Nf-κB* в імунопозитивних клітинах.

Вступ

Цукровий діабет 1 типу (ЦД 1 типу) – багатофакторне, полігенне автоімунне захворювання, в розвитку якого особливої уваги заслуговують взаємовідносини кишково-асоційованої лімфоїдної тканини (КАЛТ) та факторів, що впливають на неї й здатних потенціювати розвиток даної патології [22]. Так, останні дослідження свідчать, що в розвитку ЦД1 типу критичну роль можуть грати зміни експресії рецепторів вродженого імунітету структурами КАЛТ – паттерн-розпізнаючих рецепторів (PPR): мембранних та ендосомальних толл-подібних рецепторів (TLRs), цитоплазматичних NOD-like рецепторів (NLR), сенсорів вірусних РНК RIG-like рецепторів (RLRs), основними лігандами для яких є патоген-асоційовані молекулярні образи (pathogen-associated molecular patterns-PAMP) мікроорганізмів кишечника [1]. Розвиток ЦД 1 типу в людини і його експериментальних аналогів у тварин супроводжується змінами складу кишкової мікрофлори [4], що суттєво впливає на рівень сигналізації через PPR та призводить до активації ядерного фактору *NF-κB* (nuclear factor kappa-B) [20]. Транскрипційний фактор *NF-κB* контролює експресію більш ніж 500 генів, зокрема генів імунної відповіді, апоптозу і клітинного циклу, а порушення його регуляції викликають розвиток запалення, автоімунних і онкологічних захворювань [5]. Цей фактор є основним стимулятором продукції прозапальних цитокінів $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-18$, $TNF\alpha$ та важливим регулятором диференціювання клітин адаптивної імунної відповіді, зокрема субпопуляцій супресорних Т-регуляторних (Treg) та прозапальних Th17- і Th1-клітин, основним

резервуаром пула яких є саме тонкий кишечник, а їх дисбаланс може грати роль тригера прогресії ЦД 1 типу [3].

Мета дослідження

Вивчити особливості експресії транскрипційного фактору *NF-κB* клітинами КАЛТ у щурів з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД).

Матеріал і методи

Дослідження проведені на 20 самцях щурів лінії Wistar. Тварини отримані з розплідника Об'єднання ветеринарної медицини ПП «Біомодельсервіс» (Київ). 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 і інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Досліджувані тварини були розділені на 2 експериментальні групи: контрольні щури, яким одноразово внутрішньочеревно вводили 0,5 мл 0,1 М цитратного буферу (рН = 4,5) (група 1); щури з 14-денним експериментальним стрептозоточинним діабетом (група 2). Стрептозоточин (STZ) (SIGMA Chemical, США) вводили щурам внутрішньочеревно в дозі 50 мг/кг, розчиненої в 0,5 мл 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5) перед моментом уведення. Час, що минув із дня введення препарату, в подальшому викладі матеріалу інтерпретувався як тривалість перебігу діабету. Визначення концентрації глюкози в крові, яку брали з хвостової вени, проводили глюкозооксидазним методом із застосуванням приладу «BIONIME Rightest™ GM 110» (Швейцарія) че-

рез 12 годин і на 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14 доби після ін'єкції стрептозотину. Вимірювання рівня глікемії здійснювали через 6 годин з моменту останнього прийому їжі. На 3 добу після введення стрептозотину для подальших досліджень відбирали тварин із рівнем глікемії натще $> 8,0$ ммоль/л.

Структуру популяції Nf-kB+-клітин вивчали на підставі аналізу серійних гістологічних зрізів і даних їх морфометричних і денситометричних характеристик. Для проведення даного дослідження на ротаційному мікромомі MICROM HR-360 (Microm, Німеччина) робили 5-мікронні серійні зрізи клубової кишки, які потім депарафінували в ксилолі, проводили регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100 %, 96 %, 70 %), відмивали в 0,1 М фосфатному буфері (pH = 7,4) і фарбували з первинними кролячими моноклональними антитілами (МКАТ) до субоддиниці p50 та її прекурсора p105 Nf-kB щура (Santa Cruz Biotechnology, США) протягом 18 годин у вологій камері при $T = 4^{\circ}\text{C}$. Після відмивання надлишку первинних антитіл в 0,1 М фосфатному буфері, зрізи інкубували 60 хвилин ($T = 37^{\circ}\text{C}$) з вторинними антитілами до повної молекули IgG кроля, кон'югованими з FITC. Після інкубації зрізи промивали 0,1 М фосфатним буфером і поміщали в суміш гліцерину і фосфатного буфера (9:1) для подальшої люмінесцентної мікроскопії. Оброблені гістологічні зрізи вивчали з допомогою комп'ютерної програми ImageJ (NIH, США). Зображення, що отримується на мікроскопі PrimoStar (ZEISS, Німеччина) в ультрафіолетовому спектрі збудження 390 нм (FITC) за допомогою високочутливої камери AxioCam 5c (ZEISS, Німеччина) і пакета програм для отримання, архівування та підготовки зображень до публікації AxioVision 4.7.2 (ZEISS, Німеччина) негайно вводилося в комп'ютер. При цьому в автоматичному режимі визначалися області зі статистично значущою флуоресценцією, характерною для клітин, які експресують Nf-kB. Обчислювалися морфометричні і денситометричні характеристики імунопозитивних клітин. На підставі класифікаційного математичного аналізу всі Nf-kB+-імунопозитивні клітини були розділені на Nf-kB+-лімфоцити, Nf-kB+-макрофаги та Nf-kB+-дендритні клітини, які відрізняються площею, периметром та циркулярністю. Циркулярність обчислювалась за формулою $\text{Circularity} = 4\pi \cdot \text{AREA} / \text{PERIM}^2$. Її значення було рівне 1 для ідеально круглих об'єктів і наближалось до 0 для максимально витягнутих. Концентрацію білка визначали, враховуючи інтенсивність флуоресценції ідентифікованих імунопозитивних клітин і неспецифічну флуоресценцію препарату (так званий "фон"). На

підставі цих показників обраховувалася коректована клітинна флуоресценція (в умовних одиницях інтенсивності флуоресценції УОІФ): Integrated Density (інтегрована щільність) – (площа виділених клітин * середню флуоресценцію фона). При фарбуванні МКАТ досліджували Nf-kB+-клітини, розташовані у власній пластинці слизової оболонки ворсинок (СОВ) і в ізольованих лімфоїдних вузликах (ЛВ), які є, відповідно, ефекторними та індуктивними зонами імунної відповіді в КАЛТ.

Всі отримані експериментальні дані обробляли на персональному комп'ютері пакетом прикладних і статистичних програм EXCEL з пакету MS Office 2010 (Microsoft Corp., США), STATISTICA 6.0 (Stat-Soft, 2001). Для всіх показників розраховували значення середньої арифметичної вибірки (M), її дисперсії і помилки середньої (m). Для виявлення достовірності різниць результатів досліджень у дослідних 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.

Обговорення результатів дослідження

Уведення експериментальним тваринам STZ призводило до розвитку ЕЦД: так, до 14 дня розвитку патологічного процесу концентрація глюкози в крові у щурів лінії Wistar збільшувалася в 3,1 раза ($9,78 \pm 0,71$ ммоль/л, $p < 0,05$) порівняно з контролем ($3,13 \pm 0,12$ ммоль/л). Спостерігалися полідипсія, гіперфагія і поліурія, тобто всі основні симптоми, характерні для ЦД 1 типу. Вивчення серійних зрізів клубової кишки контрольних щурів лінії Wistar, попередньо інкубованих з МКАТ до транскрипційного фактору Nf-kB, показало, що сумарна щільність Nf-kB+-клітин у власній пластинці слизової оболонки ворсинок (ВПСОВ) складала 33 ± 3 на 1 мм^2 , що приблизно співпадає з їх кількістю і в ізольованих лімфоїдних вузликах (ЛВ) (табл.). При цьому серед Nf-kB+-клітин в обох вивчених морфофункціональних зонах переважали Nf-kB+-лімфоцити, на долю яких приходилося від 53 до 62 % від загальної кількості Nf-kB+-клітин, тоді як найменш представленими в структурі популяції виявилися Nf-kB+-дендритні клітини (табл.).

Розвиток діабету супроводжувався збільшенням сумарної щільності Nf-kB+-клітин у ВПСОВ на 46 % ($p < 0,05$) та в ЛВ на 74 % ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем (табл.). Вивчення розподілу окремих класів Nf-kB+-клітин ВПСОВ у даної групи експериментальних тварин показало

Таблиця

Кількість Nf-kB⁺-клітин та концентрація білка Nf-kB (УОІФ) в клубовій кишці щурів лінії Wistar (M± m)

Серії	Nf-kB ⁺ -макрофаги	Nf-kB ⁺ -дендритні клітини	Nf-kB ⁺ -лімфоцити	Сумарна щільність Nf-kB ⁺ -клітин
кількість Nf-kB ⁺ -клітин у власній пластинці слизової оболонки ворсинок				
контроль	$\frac{8 \pm 1}{23,7 \pm 2,4\%}$	$\frac{5 \pm 1}{14,5 \pm 3,7\%}$	$\frac{21 \pm 3}{61,8 \pm 7,9\%}$	33±3
діабет 2 тижня	$\frac{26 \pm 1^1}{54,9 \pm 2,40\%^1}$	$\frac{10 \pm 1^1}{21,2 \pm 1,6\%}$	$\frac{11 \pm 1^1}{23,8 \pm 1,6\%^1}$	48±2 ¹
кількість Nf-kB ⁺ -клітин в ізольованих лімфоїдних вузликах				
контроль	$\frac{10 \pm 1}{27,6 \pm 3,8\%}$	$\frac{7 \pm 1}{19,2 \pm 4\%}$	$\frac{19 \pm 2}{53,2 \pm 5\%}$	35±4
діабет 2 тижня	$\frac{32 \pm 10^1}{52,7 \pm 2,4\%^1}$	$\frac{16 \pm 1^1}{26,1 \pm 2,2\%^1}$	$\frac{13 \pm 1^1}{21,3 \pm 1,8\%^1}$	61±2 ¹
	Nf-kB ⁺ -макрофаги	Nf-kB ⁺ -дендритні клітини	Nf-kB ⁺ -лімфоцити	
концентрація Nf-kB у власній пластинці слизової оболонки ворсинок				
контроль	0,441±0,014	0,593±0,053	0,212±0,003	
діабет 2 тижня	0,598±0,01 ¹	0,687±0,024	0,220±0,003 ¹	
концентрація Nf-kB в ізольованих лімфоїдних вузликах				
контроль	0,464±0,019	0,554±0,040	0,210±0,004	
діабет 2 тижня	0,626±0,012 ¹	0,716±0,025 ¹	0,216±0,003	

Примітка. У чисельнику – щільність популяції Nf-kB⁺-клітин (на 1 мм²), в знаменнику – процентна частка окремих класів Nf-kB⁺-клітин; достовірність відмінностей параметрів $p < 0,05$ по відношенню до контролю (1)

збільшення щільності популяції (ЩП) Nf-kB⁺-макрофагів (у 3,2 раза, $p < 0,05$), Nf-kB⁺-дендритних клітин (у 2 рази, $p < 0,05$) та зниження щільності популяції Nf-kB⁺-лімфоцитів (на 52 %, $p < 0,05$). При цьому в структурі популяції спостерігалось збільшення відсоткової частки Nf-kB⁺-макрофагів (у 2,3 раза, $p < 0,05$) й зменшення відсоткової частки Nf-kB⁺-лімфоцитів (у 2,6 раза, $p < 0,05$). Ще більш виразні зміни спостерігались в розподіленні окремих класів і структури популяції Nf-kB⁺-клітин в ІЛВ (табл.). Так, розвиток діабету супроводжувався збільшенням щільності популяції та відсоткової частки Nf-kB⁺-макрофагів (у 3,2 раза й на 91 % відповідно, $p < 0,05$), Nf-kB⁺-дендритних клітин (у 2,3 раза й на 36 %, $p < 0,05$) та зниженням цих показників у Nf-kB⁺-лімфоцитів (на 68 % та у 2,5 раза, $p < 0,05$).

Вимірювання інтенсивності флуоресценції Nf-kB⁺-клітин, що відображує концентрацію транскрипційного фактора Nf-kB в імунопозитивних клітинах, показало достовірне зростання даного параметру при розвитку діабету у Nf-kB⁺-макрофагів та Nf-kB⁺-лімфоцитів у ВПСОВ, а також у Nf-kB⁺-макрофагів та Nf-kB⁺-дендритних клітин в ІЛВ (на 29-35%, $p < 0,05$) в порівнянні з контролем (табл.).

Родина Nf-kB складається з 5 основних білків - c-Rel, RelA (p65), RelB, NF-kB1 (p50 та його прекурсору p105) та NF-kB2 (p52 та його прекурсору

ру p100), здатних утворювати різні гетеродимерні комбінації, а експресуються вони практично у всіх клітинах організму [21]. Спочатку експресія NF-kB була виявлена в В-лімфоцитах і він був ідентифікований як фактор швидкої проліферації та дозрівання даних клітин. Однак, не дивлячись на те, що класичні антиген-презентуючі клітини (АПК – макрофаги, дендритні клітини, В-лімфоцити) відрізняються найбільш інтенсивною експресією NF-kB, він також завжди активно виражений і в Т-лімфоцитах [23]. Більше того, зміна рівня експресії NF-kB Т-лімфоцитами має прямий вплив на процеси їх дозрівання, диференціювання й активації, що було показано для всіх основних субпопуляцій Т-хелперів: Th1, Th2, Th9, Th17, Т-фолікулярних хелперів (Tfh) та Т-регуляторних лімфоцитів [15]. Так, у c-Rel-дефіцитних мишей спостерігається дефектна Th1-опосередкована імунна відповідь, а продукція основного цитокіну Th1 – клітин IFN γ практично зведена нанівець [6]. RelB-дефіцитні Т-клітини не диференціюються у Th1, що, можливо, пов'язано зі зниженою експресією транскрипційного фактору T-bet, а CD4⁺ Т-клітини p50-дефіцитних мишей не здатні експресувати транскрипційний фактор GATA3 в ході їх Th2-диференціювання[2]. Ruan Q. et al. (2009) продемонстрували, що два протеїни родини NF-kB: c-Rel та p65, які здатні утворювати гетеродимери з p50,

стимулюють розвиток Treg-клітин через формування Foxp3-специфічної енхансеосоми [17]. Дефіцит і c-Rel, і p65 блокує експресію Foxp3 і, відповідно, диференціювання Treg, а в таких експериментальних тварин кількість T-регуляторних клітин знижується в 4 і більше разів порівняно з контрольною групою [7]. Останнім часом описана роль родини NF-κB і в регулюванні експресії транскрипційного фактора RORγt, що спрямовує диференціювання Th17-клітин: показано, що c-Rel- і p65-дефіцитні T-клітини відрізняються порушеною експресією RORγt, продукцією IL-17 і здатність диференціюватися в Th17 [18]. Активація NF-κB грає важливу роль і в розвитку Tfh через регуляцію експресії індукбельного ко-стимулятора ICOS, а в NF-κB1-дефіцитних мишей спостерігалось порушення диференціювання Tfh унаслідок зниження експресії хемокіну CXCR5, що впливало на диференціювання В-лімфоцитів в гермінативних центрах і продукцію антитіл [10]. У свою чергу, диференціювання Th9-клітин не порушене при репресії класичного шляху активації NF-κB, тоді як p52-дефіцитні наївні лімфоцити нездатні диференціюватися в Th9, що вказує на важливу роль і альтернативного шляху активації NF-κB [8].

Отримані нами результати співпадають з даними інших дослідників, що свідчить про важливу роль активації NF-κB в розвитку ЦД 1 типу. Так, Lamhamedi-Cherradi S. et al. (2003) продемонстрували, що c-Rel^{-/-} та NF-κB1^{-/-} дефіцитні миші резистентні до розвитку STZ-індукованого діабету [9]. При цьому, у c-Rel^{-/-} T-клітин спостерігається дефектна Th1-, але не Th2-відповідь. Крім того, c-Rel^{-/-} і NF-κB1^{-/-}-дендритні клітини продукують меншу кількість IL-12 та TNFβ, а аналогічні макрофаги демонструють знижену продукцію IFNγ, IL-6, IL-12 та TNF-α у відповідь на їх стимуляцію ліпополісахаридами. Аналогічні результати були отримані Mabley J. et al. (2002), які встановили, що p50-дефіцитні миші стійкі до розвитку низькодозового STZ-індукованого діабету [11], а блокада NF-κB робить експериментальних тварин стійкими і до діабету, індукованого алоксаном [16]. У свою чергу, гіперглікемія, що розвивається при діабеті, індукує активацію NF-κB у моноцитах периферичної крові пацієнтів із ЦД 1 типу [19]. Дендритні клітини, дефектні за транскрипційним фактором NF-κB, можуть попереджувати розвиток діабету в мишей лінії NOD (nonobese diabetic mice) [13]. Так, введення таких клітин у кількості 2x10⁶ 6-7-тижневим NOD-мишам ефективно попереджувало в них спонтанний розвиток діабету, а T-лімфоцити їх панкреатичних лімфатичних вузлів мали низь-

ку реактивність до острівцевих антигенів і продукували низьку кількість IFNγ і IL-2. Mollah Z. et al. (2009) продемонстрували порушення експресії NF-κB у дендритних клітинах і макрофагах людей із ЦД 1 типу, що порушує диференціювання даних АПК і впливає на рівень презентації ними панкреатичних антигенів [14]. Такі результати свідчать, що NF-κB відіграє важливу роль у прогресії ЦД, а його субодиниці можуть бути фармакологічною мішенню для попередження даної патології. Зміни в експресії NF-κB в КАЛТ можуть суттєво впливати на баланс про- і протизапальних субпопуляцій T-хелперів, що, крім того, ускладнюється важкими метаболічними порушеннями, здатними, у свою чергу, поглиблювати даний дисбаланс [12].

Висновки

1. Розвиток діабету супроводжується збільшенням кількості Nf-κB⁺-клітин у лімфоїдних структурах КАЛТ на 46-74% (p<0,05) порівняно з контролем, а також призводить до достовірного збільшення концентрації транскрипційного фактора Nf-κB в імунопозитивних клітинах.

2. Збільшення експресії Nf-κB імунними клітинами кишечника може впливати на диференціювання різних субпопуляцій T-хелперів і продукцію ними прозапальних цитокінів, виступаючи в такий спосіб одним із тригерів розвитку і прогресії цукрового діабету.

Перспективи подальших досліджень

Значний інтерес представляє подальше вивчення компонентів вродженої та адаптивної імунної системи КАЛТ при ЕЦД.

Література. 1. Atkinson M.A. Does the gut microbiota have a role in type 1 diabetes? Early evidence from humans and animal models of the disease/ M.A. Atkinson, A. Chervonsky // *Diabetologia*. - 2012. - Vol.55, №11. - P. 2868-2877. 2. Das J. A critical role for NF-kappa B in GATA3 expression and Th2 differentiation in allergic airway inflammation / J.Das, C.H. Chen, L. Yang [et al.] // *Nat. Immunol.* - 2001 - Vol. 2. - P. 45-50. 3. Gerondakis S. Roles of the NF-kappaB pathway in lymphocyte development and function / S.Gerondakis, U.Siebenlist // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* - 2010. - Vol.2, №5. - P. 182-188. 4. Hara N. The role of the intestinal microbiota in type 1 diabetes. / N.Hara, A.Alkanani, D.Zipris // *Clin Immunol.* - 2013. - Vol.146, №2. - P. 112-119. 5. Hayden M.S. NF-κB in immunobiology / M.S. Hayden, S. Ghosh // *Cell Res.* - 2011. - Vol.21, №2. - P. 223-244. 6. Hilliard B.A. Critical roles of c-Rel in autoimmune inflammation and helper T cell differentiation // *J. Clin. Invest.* - 2002 - Vol. 110 - P. 843-850. 7. Isomura I. c-Rel is required for the development of thymic Foxp3+ CD4 regulatory T cells / I. Isomura, S.Palmer, R. J. Grumont [et al.] // *J. Exp. Med.* - 2009 - Vol. 206. -P. 3001-3014. 8. Kaplan M. Th9 cells: differentiation and disease // *Immunological Reviews* - 2013 - Vol. 252.-P. 104-115. 9. Lamhamedi-Cherradi S. Transcriptional Regulation of Type 1 Diabetes by NF-κB / Lamhamedi-Cherradi S., Zheng S., Hilliard B. // *The Journal of Immunology* - 2003. - Vol. 171. - P. 4886-4892. 10. Liu X. Transcriptional regulation of follicular T-helper (Tfh) cells / X.Liu, R.Nurieva, C.Dong // *Immunological Reviews*. - 2013.

– Vol. 252. – P. 139–145. 11. Mabley J. NF- κ B1 (p50)-deficient mice are not susceptible to multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes / J.Mabley, G.Hasko, L.Liaudet // *J. Endocrinol.* - 2002. - Vol.173. - P.457-464. 12. Maciver N.J. Metabolic regulation of T lymphocytes / N.J.Maciver, R.D.Michalek, J.C. Rathmell // *Annu Rev Immunol.* – 2013. – Vol. 31 – P. 259283. 13. Ma L. Prevention of Diabetes in NOD Mice by Administration of Dendritic Cells Deficient in Nuclear Transcription Factor- κ B Activity / L.Ma, S. Qian, X. Liang // *Diabetes.* - 2003. - Vol.8. - P.1976-1985. 14. Mollah Z. Abnormal NF- κ B function characterizes human type 1 diabetes dendritic cells and monocytes / Z.Mollah, S.Pai, C. Moore // *J. Immunol.*2008. - Vol.180. - P.3166-3175. 15. Oh H. NF- κ B: roles and regulation in different CD4+ T-cell subsets / H.Oh, S.Ghosh // *Immunological Reviews* – 2013 – Vol. 252. – P. 41–51. 16. Quan N. Administration of NF- κ B decoy inhibits pancreatic activation of NF- κ B and prevents diabetogenesis by alloxan in mice./ N.Quan, E.Ho W. La [et al.] // *FASEB Journal* – 2001. –Vol. 15. – P. 1616–1618. 17. Ruan Q. Development of Foxp3(+) regulatory t cells is driven by the c-Rel enhanceosome/ Q.Ruan, H.Chen // *Immunity.* – 2009 – Vol. 31 – P. 932–940. 18. Ruan Q. The Th17 immune response is controlled by the Rel-ROR γ -ROR γ T transcriptional axis // *J. Exp. Med.* – 2011. – Vol. 208. – P. 2321–2333. 19. Sandip Patel. Role of NF- κ B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications / Sandip Patel, Dev Santani // *Pharmacological reports.* - 2009. – Vol. 61. - P.595-603. 20. Sankar Ghosh. Celebrating 25 years of NF- κ B research / Sankar G., Matthew S. H. // *Immunological Reviews* – 2012 – Vol. 246. – P. 5–13. 21. Savinova O.V. The Nfkb1 and Nfkb2 proteins p105 and p100 function as the core of high-molecular-weight heterogeneous complexes/ O.V.Savinova, A.Hoffmann, G.Ghosh // *Mol Cell* – 2009 – Vol. 34 – P. 591–602. 22. Vaarala O. Is the origin of type 1 diabetes in the gut? // *Immunol. Cell. Biol.* – 2012. - Vol.90,3. – P. 271276. 23. Visekruna A. A key role for NF- κ B transcription factor c-Rel in T-lymphocyte-differentiation and effector functions / A.Visekruna, A.Volkov, U.Steinhoff // *Clin. Dev. Immunol.* – 2012 – Vol. 2012 – P. 239-368.

**ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
САХАРНОГО ДИАБЕТА НА ЭКСПРЕССИЮ
ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА NF- κ B В
ЛИМФОИДНЫХ СТРУКТУРАХ ПОДВЗДОШНОЙ
КИШКИ КРЫС**

А. С. Деген, А. М. Камышный

Резюме. Исследовалось влияние экспериментального сахарного диабета на интенсивность экспрессии транскрипционного фактора NF- κ B иммунными клетками подвздошной

ной кишки. Для определения NF- κ B⁺-клеток применен метод непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к NF- κ B крыс. Установлено, что развитие диабета сопровождалось увеличением количества NF- κ B⁺-клеток на 46-74 % ($p < 0,05$), а также приводило к увеличению концентрации NF- κ B в иммунопозитивных клетках.

Ключевые слова: диабет, Nf- κ B, кишечно-ассоциированная лимфоидная ткань

**INLUENCE OF EXPERIMENTAL DIABETES
MELLITUS ON THE NF- κ B TRANSCRIPTION
FACTOR EXPRESSION IN LYMPHOID
STRUCTURES OF ILEUM IN RATS**

A.S.Degen, A.M.Kamyshny

The dim of research. To study the peculiarities of NF- κ B transcription factor expression in intestinal-associated lymphoid tissues of rats with experimental diabetes mellitus.

Methods. Structure of population of NF- κ B⁺-cells has been studied by the analysis of serial histological sections using the method of indirect immunofluorescence with monoclonal antibodies to NF- κ B of rat.

Results. It has been established that diabetes development was accompanied with 46-74% ($p > 0,05$) increase in quantity of NF- κ B⁺-cells and it led to the rise in NF- κ B concentration in immunopositive cells, too.

Conclusions. The expression augmentation with NF- κ B ileum immunopositive cells can influence on differentiation of various subsets of T-helpers and their proinflammatory cytokines production, thus acting as one of triggers of diabetes development and progression.

Key words: diabetes, Nf- κ B, intestinal-associated lymphoid tissue.

**Zaporozhye State Medical University, Department of
Microbiology, Virology and Immunology
69095 Ukraine, Zaporozhye, Mayakovskiy str., 26
Degen A.S. mob.: 067-935-45-83,
e-mail: annadegen@yandex.ru**

Clin. and experim. pathol. - 2013. - Vol.12, №2 (44). - P.66-70.

Надійшла до редакції 17.05.2013

Рецензент – проф. В.Ф.Мислицький

© А.С.Деген, О.М.Камышный, 2013