

DISTRIBUTION CHARACTERISTICS OF TOLL-LIKE RECEPTORS OF INNATE IMMUNITY IN ADIPOCYTES OF PARAPANCREATIC ADIPOSE TISSUE AT AN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS AND METFORMIN ADMINISTRATION

D.A. Putilin, A.M. Kamyshny

Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye

Increasing incidence of type 1 and type 2 diabetes mellitus is a major health problem of the modern world and requires new diagnostic tools to assess early metabolic disorders, particularly insulin resistance. The link between obesity, inflammation and insulin resistance indicates the important secretory role of adipose tissue. Proinflammatory factors (cytokines, adipokines) produced by adipose tissue are related to impaired glucose metabolism. The discovery of the expression of the Toll-like receptors (TLRs) in adipocytes, suggests an important role in innate immunity. In different models of obesity, there has been observed an increase of TLRs expression in the fat tissue, therefore TLRs could be involved in systemic inflammation in this disease, and in the development of insulin resistance. To study the influence of experimental diabetes mellitus on the expression of TLR2 and TLR4 adipocytes in parapancreatic adipose tissue in Wistar line rats.

The research was conducted on 60 males of Wistar line rats with weighing 115-135 grams, which were divided into 5 experimental groups of 12 rats: control rats - group 1, rats with 3-week experimental streptozotocin-induced in diabetes (ESD1) - group 2, rats with 3-week experimental streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes (ESD2) - group 3, rats with a 3-week ESD1 - the 4-th group and ESD2 group - the 5-th group, which were administered metformin at a dose of 50 mg/kg starting from the 1-st day of diabetes induction during 3 weeks intragastrically. For induction ESD1 streptozotocin (STZ) was administered intraperitoneally to the rats at a dose of 50 mg/kg dissolved in 0.5 ml of 0.1 M citrate buffer (pH 4.5) before the point of entry. ESD2 STZ induction was carried out at a dose of 65 mg/kg of the previous (15 min.) by nicotinamide administration (intraperitoneally - 230 mg/kg). The experimental model of streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes has some similarities with type 2 diabetes in humans with reduced β -cell mass (e.g. partially reduced insulin secretion in response to glucose). Therefore, this diabetic model may be very useful in studies related with different aspects of type 2 diabetes in humans.

Structure of population of TLR2⁺ and TLR4⁺ adipocytes has been studied by the analysis of serial histological sections using the method of indirect immunofluorescence with polyclonal antibodies to TLR2 and TLR4 of rat. Processed histological sections were examined by a computer program Image J. The density of TLR on the surface of adipocytes was determined taking into account the intensity of fluorescence identified immune positive cells and nonspecific fluorescence of the drug. Adjustable cell fluorescence was calculated basing on these indicators.

The development of ESD1 increased the number of TLR2⁺ and TLR4⁺ adipocytes in 2.5 times and on 95%, respectively, increased the density of TLR2⁺-receptors on the surface of adipocytes in all grades in 9-23% and affected the density of TLR4⁺-receptor in different directions. Induction of ESD2 led to an increase in the number of TLR2⁺-adipocytes in 83%, did not affect the number of TLR4⁺-adipose cells, increased density of TLR2⁺- and TLR4⁺-receptors on the membrane in large adipocytes. Introduction of metformin to diabetic rats reduced total

number of TLR2⁺ -adipocytes in 16% at ESD1, in 22% in ESD2, TLR4⁺ -adipocytes in 36% (ETSD1), accompanied by a decrease in the density of TLR2⁺- and TLR4⁺- receptors on the surface of adipose cells.

The increasing of number of TLR2⁺- and TLR4⁺- adipocytes in parapancreatic adipose tissue and density of TLR2⁺- and TLR4⁺-receptors on the surface in the conditions of ESD induction indicates a possible increase in proinflammatory signaling and is one of the factors that may support the progression of disease. Our data demonstrate the ability of metformin to reduce the density of TLR2⁺- and TLR4⁺- receptors on the surface of adipose cells and there by adjust the ranks of adipose tissue inflammation.

ВИКОРИСТАННЯ АГЕНТІВ, ЩО БЛОКУЮТЬ КЛІТИННИЙ ЦИКЛ, ДЛЯ ЛІКУВАННЯ АНАПЛАСТИЧНОГО РАКУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

В.М. Пушкар'юв

Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України, м. Київ.

У сучасній медицині найбільш ефективними канцеростатичними засобами є агенти та сполуки, дія яких пов'язана з гальмуванням або зупинкою клітинного циклу. До таких належать, в першу чергу, таксани, які діють на мікротрубочки, порушуючи таким чином поділ клітин. Друга група агентів, таких як іонізуюча радіація (ІР) та препарати платини, пошкоджує ДНК пухлинної клітини, що також супроводжується зупинкою клітинного циклу. Нарешті, останнім часом у медичну практику почали вводити препарати, що вибірково пригнічують окремі ферменти, які беруть участь у регуляції перебігу клітинного циклу. До них належить, зокрема, інгібітор циклін-залежних кіназ – росковітин.

Вивчали ефекти паклітакселю (Рtx), γ -опромінення, росковітину та їх комбінацій на апоптозні процеси в клітинах та ксенотрансплантованих пухлинних анапластичного раку щитоподібної залози (АТЗ). Показано, що ІР та Рtx конкурентно впливають на фосфорилування основного регулятора клітинного циклу, пухлинного супресора р53, інших важливих регуляторів циклу та експресію проапоптозного білка Вах в пухлинних клітинах. В той же час, ефект комбінованої дії ІР та паклітакселю щодо активації каспаз вірогідно вище від ефектів кожного з цих агентів зокрема. Дослідження дії Рtx, γ -опромінення та їх комбінацій на виживання клітин АТЗ та ріст ксенотрансплантованих пухлин, що походять з цих клітин, показало, що ІР впливає на життєздатність пухлинних клітин не суттєво, а найбільш ефективними виявились низькі (0,5-2 Гр) дози іонізуючої радіації. В дослідях *in vivo* опромінення також не зупинило ріст пухлин – спостерігалось лише гальмування їх росту. Рtx виявився значно ефективнішим, а за комбінованої дії ІР та Рtx розмір пухлин зменшувався до 0-0,3% від контролю.

Дослідження комбінованої дії паклітакселю та росковітину на апоптозні механізми виявило, що росковітин активує каспази та розщеплення одного з субстратів каспази-3 – полі(АДФ-рибозо)-полімерази (ПАРП), але послаблює Рtx-залежну активацію каспази-9, розщеплення ПАРП та, особливо, активацію каспази-8. З іншого боку, росковітин значно знижує рівень антиапоптозного білка XIAP, який зростає при дії паклітакселю, що напевно є головною причиною канцеростатичних властивостей росковітину.

Вивчення виживаності клітин показало, що росковітин,