

К. В. Григор'єва

**Морфофункціональний стан органів імунної системи під впливом сполуки Флудинат**

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

*Ключові слова:* Флудинат, 5-фторурацил, протипухлинна дія, морфологічне дослідження, імунна система

5-фторурацил входить до більшості схем хіміотерапії пухлин шлунково-кишкового тракту [1–3]. Основними недоліками 5-фторурацилу, як і інших цитостатиків, є токсичні ефекти, а саме, пригнічення росту не тільки пухлини, а й усіх активно проліферуючих тканин організму, у тому числі імунної системи [7, 8]. Велика кількість досліджень присвячена пошуку нових сполук, які можуть діяти подібно 5-фторурацилу. Фосфорильований урацил – Флудинат (був створений та вивчається в ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України») є транспортною формою 5-фторурацила. За попередніми даними він має більш низьку токсичність [9]. Враховуючи той факт, що період лікування протипухлинними засобами, як правило, досить тривалий, вважали за необхідне вивчити зміни, що відбуваються в центральних (кістковий мозок, тимус) та периферичних (селезінка) органах імунної системи [7, 8]. Відсутні відомості про порівняльний аналіз морфологічних змін у цих органах під впливом Флудинату та 5-фторурацилу, які дозволили б встановити локалізацію та інтенсивність можливих імунних перебудов.

*Мета дослідження* – вивчення дії Флудинату на стан органів імунної системи порівняно з 5-фторурацилом.

*Матеріали та методи.* Дослідження виконано на білих нелінійних щурах з масою тіла (110–130) г. Усіх тварини розподілено на три групи: перша група – інтактні тварини (n = 5), друга група (n = 5) – тварини, яким вводили сполуку Флудинат (447 мг/кг) та третя група (n = 5) – тварини, яким вводили

препарат порівняння 5-фторурацил (136 мг/кг). Препарати вводили внутрішньочеревно в дозах, що дорівнюють ЛД<sub>50</sub> для кожного з них, за схемою 4 уведення кожні 72 год. Об'єктом морфологічного дослідження були кістковий мозок, виличкова залоза та селезінка. Якісну оцінку результатів проводили на 1, 3, 7 та 14 добу після введення препаратів. Призначені для гістологічного дослідження шматочки тканин фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, за стандартизованими методиками зневоднювали в етанолі зростаючої концентрації та поміщали в парафін [3–5]. Гістологічні зрізи товщиною 3–5 мкм фарбували гематоксиліном-еозином. Препарати вивчали та фотографували за допомогою мікроскопа Olympus BX41 та фотокамери.

*Результати та їх обговорення.* Після останнього введення сполуки Флудинат у дозі ЛД<sub>50</sub> на 1 добу у всіх досліджуваних випадках було відмічено майже повне зникнення з кісткового мозку зрілих форм клітин гемопоезу. У тимусі та селезінці не було виявлено будь-яких змін. Під впливом 5-фторурацилу спостерігали такі самі зміни в структурі кісткового мозку, вони мали такий самий ступінь виразності, як у випадку Флудинату, виявлялися в усіх тварин (рис. 1 А, Б, В). Наведені дані свідчать, що на 1 добу після введення Флудинату та флуороурацилу відбувалося пригнічення гемопоезу в кістковому мозку. У тимусі результатом впливу 5-фторурацилу були альтеративні зміни лімфоцитів коркової та мозкової речовини, а саме, реєстрували наявність клітин у стані апоптозу та некрозу. Дані морфологічні ознаки після введення 5-фторурацилу в селезінці та в корковій і мозковій речовині тимуса спостерігали вже на 1 добу в більшості тварин (рис. 2).

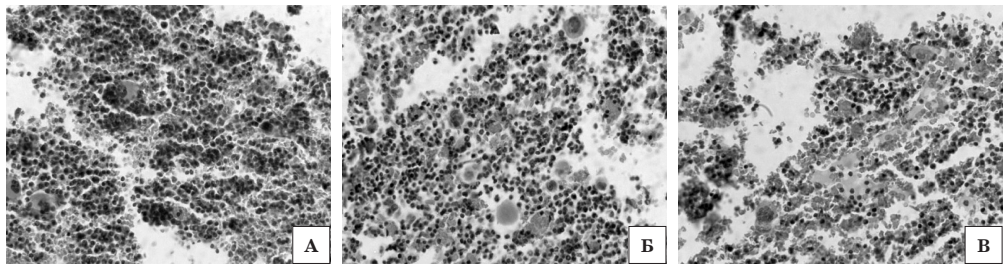


Рис. 1. Гістологічна структура кісткового мозку щура на 1 добу  
 А – контрольна група; Б – після введення Флудинату; В – після введення 5-фторурацилу  
 Зб × 200. Гем. – еоз.

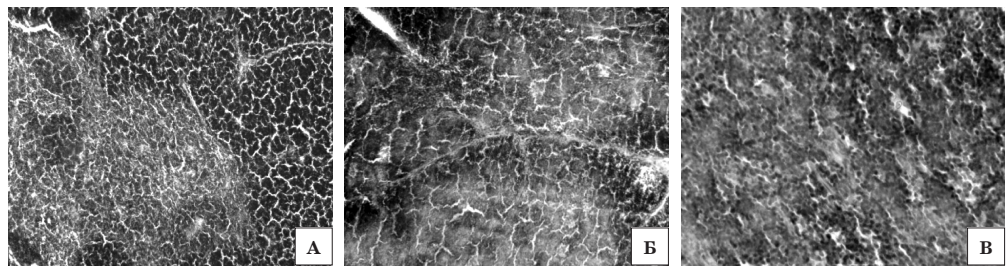


Рис. 2. Гістологічна структура тимуса щура на 1 добу  
 А – контрольна група; Б – після введення Флудинату; В – після введення 5-фторурацилу.  
 Зб × 200. Гем. – еоз.

На 3 добу після введення сполуки Флудинат у численних синусах клітин кісткового мозку спостерігали лише окремі острівці гемопоєзу, у яких знаходились клітини на різних стадіях дозрівання, зрілі клітини кісткового мозку були майже відсутні. Під впливом 5-фторурацилу стан кісткового мозку характеризувався також наявністю ознак прогресуючого пригнічення еритро-, грануло- та тромбоцитопоезу, майже до повного виснаження, у більшості тварин. Ступінь виразності означених змін був однаковий при порівнянні обох сполук. У селезінці всіх тварин відмічалися прояви виснаження – підвищений розпад лімфоцитів, відсутність ознак формування реактивних центрів у лімфатичних фолікулах.

Як під впливом Флудинату, так і 5-фторурацилу в усіх випадках були наявні деструктивні зміни тимоцитів у вилочковій залозі різного ступеня виразності. Межа між корковою та мозковою речовиною була нечіткою, спостерігали апоптози та некрози лімфоцитів як в кірковій, так і в мозковій речовині тимуса. При застосуванні 5-фторурацилу на 3 добу були наявні виражені ознаки гіпоплазії білої пуль-

пи селезінки в деяких тварин аж до апластичного стану. Ці дані свідчать про подальше пригнічення проліферативного потенціалу клітин кісткового мозку, тимуса та селезінки в усіх тварин унаслідок дії обох цитостатиків, початок якого спостерігали на 1 добу дослідження.

На 7 добу після введення сполуки Флудинат та 5-фторурацилу, як і в попередні терміни дослідження, у всіх тварин продовжували спостерігати морфологічні прояви альтеративних змін тимоцитів у вилочковій залозі (апоптоз, некроз) та виснаження гемопоєзу в селезінці з наявністю великої кількості апоптозних клітин. Одночасно спостерігали початкові прояви відновлення гемопоєзу в кістковому мозку (наявність великої кількості клітин – попередників гемопоєзу, у тому числі, мегакаріоцитів) та лімфопоєзу в тимусі (велика кількість бластних клітин та значна їхня мітотична активність). Отримані морфологічні дані свідчать про активізацію відновлювальних процесів на 7 добу спостережень у досліджуваних органах після впливу на них обох цитостатиків.

На 14 добу дослідження в кістковому мозку, селезінці та тимусі обох експери-

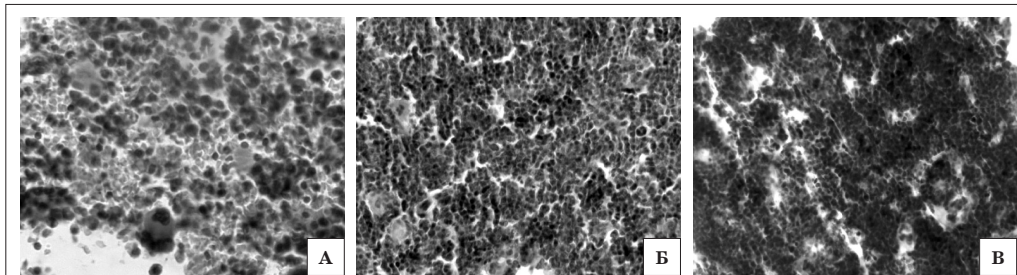


Рис. 3. Гістологічна структура кісткового мозку щура на 14 добу  
 А – контрольна група, Б – після введення Флудинату; В – після введення 5-фторурацилу.  
 36 × 200. Гем. – еоз.

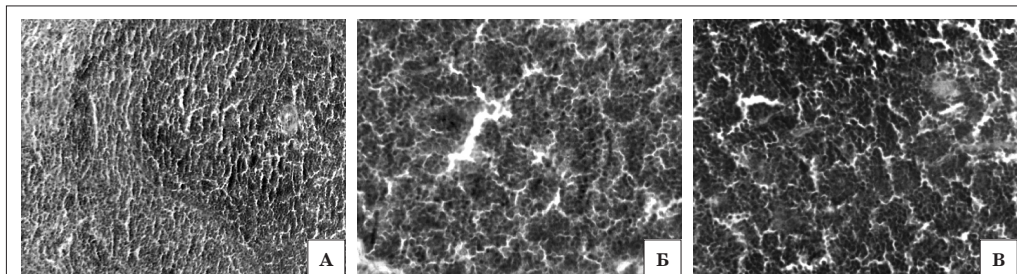


Рис. 3. Гістологічна структура тимуса щура на 14 добу  
 А – контрольна група, Б – після введення Флудинату; В – після введення 5-фторурацилу.  
 36 × 200. Гем. – еоз.

ментальних груп (Флудинат, 5-фторурацил) у всіх тварин були виявлені морфологічні прояви гіперпластичних процесів – значне збільшення кількості клітин – попередників гемопоєзу в кістковому мозку (рис. 3) та навколо дрібних артерій у білій та червоній пульпі селезінки, велика кількість клітин у стані мітотичного поділу у тканині вилочкової залози. Спостерігали велику кількість вогнищ щільно розташованих гіперхромних лімфоцитів у корковій речовині тимуса та лімфоїдних елементів у мозковій речовині (рис. 4).

### Висновки

Таким чином, якісні морфологічні характеристики кісткового мозку, селезінки та тимуса вказують на наявність змін їхньої структури в усіх експериментальних тварин під впливом Флудинату і 5-фторурацилу. Ознаки деструктивного впливу досліджуваної

речовини та 5-фторурацилу виникають на 1 добу після введення та проявляються виснаженням процесів гемопоєзу, що може бути ознакою пригнічуючого впливу обох речовин на кістковий мозок. Під впливом 5-фторурацилу, на відміну від його транспортної форми, до цих змін вже на 1 добу приєднувались виражені прояви порушення структури селезінки та тимуса майже в усіх тварин. Це свідчить про більш виражений токсичний вплив 5-фторурацилу. Альтеративні зміни в досліджуваних органах найвиразнішими були на 3 добу спостережень. Початкові ознаки регенерації кісткового мозку, клітин селезінки та тимуса при застосуванні сполуки Флудинат та 5-фторурацилу з'явилися на 7 добу експерименту. Поступову регенерацію тканин кісткового мозку, тимуса та селезінки спостерігали на 14 добу дослідження в усіх тварин.

1. Antiproliferative effects of 5-fluorouracil and oxaliplatin in colon cancer cell lines: comparison of three different cytotoxicity assays/ A. Failli, A. Legitimo, G. Orsini [et. Al.] // J. Biol Regul Homeost Agents.– 2013.– № 1.– P. 275–84.
2. Motawi T. K. Effect of protein malnutrition on the metabolism and toxicity of cisplatin, 5-fluorouracil and mitomycin C in rat stomach / T. K. Motawi, H. M. Abd-Elgawad Shahin // Food Chem Toxicol.– 2013.– V. 13. –. P. 151–158.
3. Marin-Vicente C. The effects of 5-fluorouracil on the proteome of colon cancer cells / C. Marin-Vicente Lyutvinskiy, P. Romans Fuertes, Zubarev R.A // Visa N. J. Proteome Res.– 2013.

4. Прозоровский В. Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты / Прозоровский В. Б. // Токсикологический вестник.– 1998.– № 1.– С. 28–32.
5. Litchfield I. F. Simplified method of evaluating dose – effect experiments/ Litchfield I. F., Wilcoxon F.M. A. // J. Pharmacol. Exp. Ther.– 1949.– № 2.– P. 93–113.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів (Методичні рекомендації)/За ред. О. В. Стефанова.– К.: Авіцена, 2001.– 527 с.
7. Зидермане А. А. Фторпиримидины в химиотерапии опухолей / А. А. Зидермане.– Рига: Зинатне, 1982.– 173с.
8. Фторпиримидины в химиотерапии опухолей желудочно-кишечного тракта / И. Б. Щепотин, С. И. Киркилевский, Е. А. Колесник, А. В. Лукашенко. –Х.: ФОРМ Мартиняк, 2009.– 271с.
9. The development of less toxic compound Fludinat – the new transport form of fluorouracil International conference «Tumor and host: novel aspects of old problem» / G. Kudrjatzeva, N. I. Sharykina // Experimental oncology.– 2010.– V. 32.– P. 87. I. O. A.

**Е. В. Григорьева**

### **Мофофункциональное состояние органов иммунной системы под влиянием соединения Флудинат**

Проведено сравнительное морфологическое исследование органов иммунной системы (костный мозг, тимус, селезенка) при введении нового потенциального противоопухолевого соединения Флудинат, транспортной формы 5-фторурацила, которое по предварительным данным менее токсично, чем 5-фторурацил при сохранении противоопухолевого эффекта. Эксперимент проведен на белых нелинейных крысах. Для исследования был использован метод гистологической оценки. Показан однонаправленный характер и степень выраженности структурных изменений органов иммунной системы при введении как Флудината, так и 5-фторурацила. Признаки деструктивного влияния исследованного вещества и 5-фторурацила возникают на 1 сутки. Наибольшей выраженности альтеративные изменения достигали на 3 сутки эксперимента. Постепенное восстановление структуры органов после введения соединений начиналось на 7 и 14 сутки эксперимента.

*Ключевые слова:* Флудинат, 5-фторурацил, противоопухолевое действие, морфологическое исследование, иммунная система

**Е. V. Grygorieva**

### **Immune system morphofunctional state after Fludinat administration**

Morphological study of immune system organs (bone marrow, spleen, thymus) after a new antitumor substance Fludinat administration has been carried out. According to the previous findings, the substance is less toxic than 5-fluorouracil preserving its antitumor effect. White rats were used in the study. Histological processing of tissues was applied. There were shown the unidirectional qualitative changes of bone marrow, spleen and thymus as after Fludinat and 5-fluorouracil administrations. Morphological signs of alteration were shown on the 1th day after injection of both substances. Pronounced signs of spleen and thymus alteration were shown on the 1th day after 5-fluorouracil administration, in contrast to its transport form. The most marked destructive changes were seen on the 3th day. The gradual renewal of bone marrow structure after injection of both substances was shown on the 7th day of the experiment. It was accompanied by the same changes in spleen and thymus. The signs of gradual renewal were revealed in two weeks after beginning of the experimental study.

*Key words:* Fludinat, 5-fluorouracil, morphological study, immune system

Надійшла: 04.10.2013 р.

**Контактна особа:** Григор'єва К. В., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 91 98.