

К.В.Григор'єва

ДУ "Інститут фармакології та токсикології"
АМН України,
Київ

Ключові слова: флудинат, 5-фторурацил, протипухлинна дія, морфологічне дослідження, імунна система.

Надійшла: 22.08.2014

Прийнята: 10.09.2014

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2014.3.13-16>

УДК 615.2+616.006+547.854

ДИНАМІКА МОРФОЛОГІЧНИХ ТА МОРФОМЕТРИЧНИХ ЗМІН ОРГАНІВ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПІД ВПЛИВОМ ФЛУДИНАТУ В ПОРІВНЯННІ З 5-ФТОРУРАЦИЛОМ

Дослідження виконано в рамках планової тематики «Фундаментальні основи конструювання та вивчення нових протипухлинних і протиметастазних засобів та комбінацій на їх основі» (номер державної реєстрації 06.12 АМН)

Реферат. Експеримент проведений на білих нелінійних щурах при внутрішньоочеревинному введенні флуороурацилу та флудинату в ЛД₅₀. Матеріал досліджували через 1, 3, 7, 14 діб після одноразового введення препаратів. Продемонстровано односпрямований характер та ступінь вираженості структурних змін органів імунної системи при введенні сполук. Найбільш виражені зміни спостерігали на третю добу. Поступове відновлення структури органів відбувались на 7-у та 14-у добу.

Morphologia. – 2014. – Т. 8, № 3. – С. 13-16.

© К.В.Григор'єва, 2014

✉ grygoreva@dec.gov.ua

Grygorieva E.V. Dynamic of morphologic and morphometric changes in organs of immune system at fludinat and 5-fluorouracil administration.

ABSTRACT. Background. Fluorouracil is widely used in clinical practice. This effective preparation has high toxicity. It is well known, that fluorouracil injection leads to pronounced alterative changes in organs and systems, first of all, in bone marrow, and other organs. **Objective.** It was of high interest to investigate the effect of fludinat and fluorouracil on most sensitive organs and systems – bone marrow, spleen, thymus. Morphological study of organs of immune system after a new antitumor substance fludinat administration has been performed. **Methods.** White rats were used in the study after intraperitoneal injection of fludinat and 5 – fluorouracil in LD₅₀. The animals were euthanased on the 1, 3, 7, 14 day after injection. Measurement of spleen structures was applied. **Results.** There were shown the unidirectional changes due to fludinat and 5 – fluorouracil administration, qualitative changes of bone marrow, spleen and thymus as well. Morphological signs of alteration were shown on the first day after injection of both remedies. Pronounced signs of spleen and thymus alteration were shown on the first day after 5 – fluorouracil administration, in contrast to its transport form. The most prominent destructive changes were seen on the third day. The gradual renewal of bone marrow structure after injection of both remedies was shown on the seventh day in two weeks after beginning of the experimental study. **Conclusion.** It was considered that fludinat is less toxic than 5-fluorouracil.

Key words: Fludinat, 5-fluorouracil, antitumor effect, morphological study, immune system.

Citation:

Grygorieva EV. [Dynamic of morphologic and morphometric changes in organs of immune system at fludinat and 5-fluorouracil administration]. *Morphologia*. 2014;8(3):13-6. Ukrainian.

Вступ

В клінічній практиці до теперішнього часу широко використовується флуороурацил, який, поряд зі значною протипухлинною дією, має високу токсичність [1-3]. Відомо, що введення флуороурацилу призводить до значних змін органів та систем організму, перш за все, кісткового мозку, та інших органів кровотворення [4-5].

В ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України" синтезована оригінальна молекула, в якій флуороурацил є зв'язаним з дифенілфосфорною кислотою в якості транспортної форми флуороурацилу з його вивільненням в

організмі (флудинат) [6]. Флуороурацил в останньому виступає як діюча речовина, що передбачає однотипність властивостей обох сполук при дії на організм.

Мета

Порівняльне дослідження впливу флуороурацилу та флудинату на найбільш чутливі до їх побічної дії органи і системи – кістковий мозок, селезінку, тимус.

Матеріали та методи

Дослідження проведено на білих нелінійних щурах при внутрішньоочеревинному введенні флуороурацилу та флудинату в ЛД₅₀. В дослі-

дження використано 45 білих нелінійних щурів з масою тіла 80–120 г (в кожній дослідній групі включаючи контроль було по 5 тварин). Взяття матеріалу проводили через 1, 3, 7, 14 діб після одноразового введення флуороурацилу та флудинату. Органи і тканини фіксували в 10% нейтральному формаліні. Виготовляли парафінові зрізи, забарвлювали гематоксилін-еозином. Визначали розміри структур селезінки (діаметр фолікулів, періартеріальної зони та гермінативного центру).

Результати та їх обговорення

Виявлені якісні морфологічні характеристики кісткового мозку, селезінки та тимусу вказують на наявність змін їх структури під впливом Флудинату і 5-фторурацилу, що відбувається у всіх піддослідних тварин. Ознаки деструктивного впливу досліджуваної речовини та 5-фторурацилу починають виникати на першу добу та проявляються виснаженням в ньому процесів гемопоезу у всіх тварин, що може бути ознакою їх пригнічуючого впливу на кістковий мозок. Під впливом 5-фторурацилу, на відміну від його транспортної форми до цих змін вже на першу добу приєднувались виражені прояви порушення структури селезінки та тимуса, майже у всіх тварин. Це свідчить про більш виражений токсичний вплив 5-фторурацилу. Найбільшої вираженості альтеративні зміни в досліджуваних органах у всіх піддослідних щурів набували на третю добу спостережень. Поступова регенерація

кісткового мозку при застосуванні сполуки флудинат та 5-фторурацилу відбувалось на 7 добу експерименту і супроводжувалось аналогічними процесами в селезінці та тимусі. Дані спостереження мали місце у всіх тварин. У всіх тварин обох груп, які пережили критичний термін, має місце активація гемопоезу на 7–14 добу. Поступова регенерація тканин кісткового мозку, тимусу та селезінки спостерігалась на 14 добу дослідження у всіх вивчених випадках.

Представляло інтерес також морфометричне дослідження структур селезінки. Після введення флудинату біла пульпа складала в середньому (14,5±2,9)% паренхіми органу, порівняно з контрольною групою - (17,5±2,7)%. Середній діаметр лімфатичного фолікула становив (23,7±0,7) мкм. Як і в контрольній групі тварин, спостерігали 1-3 фолікули в полі зору. В деяких з них розрізняли світлий реактивний центр, з середнім діаметром (11,9±1,2) мкм проти (9,8±0,7) мкм в контрольній групі. Середній розмір періартеріальної зони майже не відрізнявся від контролю (14,3±0,6) мкм та (14,0±0,7) мкм. Лімфоцити були без ознак розпаду. В порівнянні з контрольною групою тварин розміри лімфоїдного фолікула та реактивного центру були дещо збільшеними, окрім цього спостерігали формування нових вузликів з наявністю в них світлого реактивного центру та підвищену кількість клітин в червоній пульпі з її повнокрів'ям (табл.1). Ці дані можуть свідчити про наявність імунної стимуляції.

Таблиця 1
Середні розміри структур білої пульпи селезінки після введення флудинату в дозі ЛД₅₀, (мкм) (морфометричні дослідження)

Діаметр фолікула	Діаметр періартеріальної зони	Діаметр гермінативного центру
Контрольна група		
19,975±0,934	14,073±0,709	9,821±0,779
Флудинат		
1 доба		
23,764±0,787*	14,378±0,639	11,994±1,219
3 доба		
15,700±0,791*	7,358±0,355*	0
7 доба		
17,383±1,579	7,406±0,503*	0
14 доба		
16,841±0,994	8,539±0,507*	0

Примітка: * - $p \leq 0,05$ - вірогідно по відношенню до контролю.

В селезінці щурів, що отримали флудинат, на 3 добу відмічено вірогідне зменшення середніх розмірів лімфатичних фолікулів та періартеріальних зон в порівнянні з інтактними тваринами, їх діаметр становив (15,7±0,7) мкм та (7,3±0,3) мкм (табл. 1). Лімфатичні вузлики були неправильної форми, поліморфні за розмірами, зливались між собою. В деяких з них відмічались ознаки виснаження - зниження щільності розташування лімфоцитів та їх підвищеного розпаду,

спостерігали відсутність формування реактивних центрів в лімфатичних фолікулах. В червоній пульпі селезінки спостерігались ознаки активації екстрамедулярного кровотворення (наявність великої кількості клітин – попередників гемопоезу, в тому числі мегакаріоцитів). Відмічалось повнокрів'я червоної пульпи.

На 7 добу розміри фолікулів та періартеріальних зон не відрізнялись від таких у попередній термін дослідження, їх середній діаметр стано-

вив ($17,3\pm 1,5$) мкм та ($7,4\pm 0,5$) мкм відповідно, але був зниженим в порівнянні з тваринами контрольної групи. В фолікулах не спостерігалось реактивних центрів (табл. 1). На 14 добу чисельність лімфатичних вузликів селезінки була значно меншою, ніж в контрольній групі тварин та в попередній термін дослідження. Біла пульпа ста-

новила ($6,5\pm 0,9$)% паренхіми органу, цей показник був значно зниженим в порівнянні з контролем. При застосуванні флуороурацилу на 1-7 добу були наявними виражені ознаки гіпоплазії білої пульпи в селезінці (зменшення розмірів відповідних структур та повне зникнення реактивних центрів) (табл.2).

Таблиця 2
Середні розміри структур білої пульпи селезінки після введення флуороурацилу в дозі ЛД₅₀ (мкм)

Діаметр фолікула	Діаметр періартеріальної зони	Діаметр гермінативного центру
Контрольна група		
19,975±0,934	14,073±0,709	9,821±0,779
Флуороурацил		
1 доба		
19,769±1,228	8,994±0,6*	0
3 доба		
20,308±0,973	7,227±0,435*	0
7 доба		
17,782±1,221	7,131±0,535*	0
14 доба		
16,6±1,892	10,611±1,196	0

Примітка: * - $p \leq 0,05$ - вірогідно по відношенню до контролю.

Таким чином, всі виявлені ознаки змін структури лімфоїдних органів вказують на наявність негативного впливу на них флуоридату і флуороурацилу. Ці ознаки починають виникати вже на першу добу та виражаються у пригніченні гемопоезу в кістковому мозку. Під впливом флуороурацилу, до цих змін вже на першу добу приєднувались ознаки порушення структури селезінки та тимусу, які набували найбільшого ступеню вираженості на 3 добу. Виявлені зміни носили зворотній характер. Поступове відновлення структури кісткового мозку при застосуванні флуоридату та флуороурацилу відбувалось на 7 добу експерименту і супроводжувалось аналогічними процесами в селезінці та тимусі.

Підсумок

В цілому, морфологічні дослідження свідчать про те, що зміни в селезінці при введенні

флуоридату, на відміну від флуороурацилу, були відтерміновані до строку трьох діб. Виявлені якісні та кількісні характеристики кісткового мозку, селезінки та тимусу свідчать про наявність деструктивних змін в них при одноразовому застосуванні флуоридату та флуороурацилу. Встановлені зміни в обох випадках мали зворотний характер. У випадку застосування флуороурацилу спостерігали більш ранній початок імунотоксичних проявів в тимусі та селезінці експериментальних тварин та більш виражені зміни, що свідчить на користь флуоридату.

Перспективи подальших досліджень

Порівняльне дослідження впливу флуороурацилу та флуоридату на найбільш чутливі до їх побічної дії органи і системи – кістковий мозок, селезінку, тимус – за допомогою широкого спектру морфологічних методів.

Літературні джерела References

1. Baranov VS, Kuznetsova TV. [Cytogenetics of human embryonic development: Research and Practical Aspects]. SPb: N-L; 2007. 640 p. Russian.
2. Hassold T, Hall H, Hunt P. The origin of human aneuploidy: where we have been, where we are going. Hum Mol Genet. 2007 Oct 15;16 Spec No. 2:R203-8. doi: 10.1093/hmg/ddm243. PMID: 17911163.
3. Esteves SC. A clinical appraisal of the genetic basis in unexplained male infertility. J Hum Reprod Sci. 2013 Jul;6(3):176-82. doi: 10.4103/0974-1208.121419. PMID: 24347931;

- PMCID: PMC3853873.
4. Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: role of genetic background. Reprod Biomed Online. 2007 Jun;14(6):734-45. doi: 10.1061/S1472-6483(10)606773. PMID: 17579990.
5. Liehr T, Weise A, Hamid AB, Fan X, Klein E, Aust N, Othman MA, Mrasek K, Kosyakova N. Multicolor FISH methods in current clinical diagnostics. Expert Rev Mol Diagn. 2013 Apr;13(3):251-5. doi: 10.1586/erm.12.146. PMID: 23570403.

6. Cinar C, Yazici C, Ergünu S, Beyazyürek C, Javadova D, Sađlam Y, Tarcan T, Güney AI. Genetic diagnosis in infertile men with numerical and constitutional sperm abnormalities. *Genet Test*. 2008 Jun;12(2):195-202. doi: 10.1089/gte.2007.0056. PMID: 18554162.

7. Douet-Guilbert N, Bris MJ, Amice V, Marchetti C, Delobel B, Amice J, Braekeleer MD, Morel F. Interchromosomal effect in sperm of males with translocations: report of 6 cases and review of the literature. *Int J Androl*. 2005 Dec;28(6):372-9. doi:

10.1111/j.1365-2605.2005.00571. PMID: 16300670.

8. Anton E, Vidal F, Blanco J. Role of sperm FISH studies in the genetic reproductive advice of structural reorganization carriers. *Hum Reprod*. 2007 Aug;22(8):2088-92. doi: 10.1093/humrep/dem152. PMID: 17573525.

9. Benet J, Oliver-Bonet M, Cifuentes P, Templado C, Navarro J. Segregation of chromosomes in sperm of reciprocal translocation carriers: a review. *Cytogenet Genome Res*. 2005;111(3-4):281-90. doi: 10.1159/000086901. PMID: 16192706.

Григорьева К.В. Динамика морфологических и морфометрических изменений органов иммунной системы под влиянием флудината в сравнении с 5-фторурацилом.

Реферат. Эксперимент проведен на белых нелинейных крысах при внутрибрюшинном введении флуороурацила и флудината в ЛД₅₀. Материал исследовали через 1, 3, 7, 14 суток после однократного введения соединений. Показан однонаправленный характер и степень выраженности структурных изменений органов иммунной системы при введении соединений. Наибольшее выраженные изменения наблюдали на третьи сутки. Восстановление структуры органов происходило на 7 и 14 сутки.

Ключевые слова: флудинат, 5-фторурацил, противоопухолевое действие, морфологическое исследование, иммунная система.