ISSN 1814-6023 (print)
УДК 577.161.22+577.175.53+615.356

Поступила в редакцию 19.06.2017
Received 19.06.2017

А. А. Астроўскі[1], В. А. Гурыновіч[1], Ю. З. Максімчык[1], А. Б. Астроўская[2], С. Д. Арэхаў[2], А. Г. Майсяёнак[1]

[1]Інстытут біяхіміі біялагічна актыўных злучэнняў НАН Беларусі, Гродна, Рэспубліка Беларусь
[2]Гродзенскі дзяржаўны медыцынскі універсітэт, Гродна, Рэспубліка Беларусь

ЗМЯНЕННЕ ГІСТАЛАГІЧНАЙ СТРУКТУРЫ НАДНЫРКАВЫХ ЗАЛОЗ ПАЦУКОЎ ПАД УЗДЗЕЯННЕМ ПРЭДНІЗАЛОНА І ЯГО КАМБІНАЦЫІ З ВІТАМІНАМ D

Аннотация. Изучено одновременное воздействие преднизолона и витамина D на гистологическую структуру надпочечниковых желез лабораторных крыс. Животным ежесуточно в течение 3 недель внутрижелудочно вводили либо физраствор, либо преднизолон в дозе 5 мг/кг массы тела, либо преднизолон в комбинации с витамином D в дозе 800 МЕ/кг. Надпочечники фиксировали в смеси формалин–спирт–уксусная кислота, заливали в парафин, делали серийные срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Показано, что введение витамина D нормализовало пролиферацию и апоптоз клеток коры надпочечниковых желез, измененных под влиянием преднизолона, однако не обеспечивало восстановления размеров желез. Введение витамина D вместе с преднизолоном способствовало накоплению липофусцина в сетчатой зоне коры надпочечников.

Ключевые слова: крысы, кора надпочечниковых желез, преднизолон, витамин D, митоз, апоптоз, липофусцин

Для цитирования: Змяненне гісталагічнай структуры надныркавых залоз пацукоў пад уздзеяннем прэднізалона і яго камбінацыі з вітамінам D / А. А. Астроўскі [і інш.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2017. – №4. – С. 77–85.

A. A. Astrowski[1], V. A. Gurynovich[1], Yu. Z. Maksimchyk[1], A. B. Astrowskaya[2], S. D. Arekhau[2], A. G. Moiseenok[1]

[1]Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus
[2]Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

CHANGES IN THE HISTOLOGICAL STRUCTURE OF RAT ADRENAL GLANDS EXPOSED TO PREDNISOLONE AND ITS COMBINATION WITH VITAMIN D

Abstract. The combined effects of prednisolone and vitamin D on the rat adrenal histological structure was studied. The animals were administered with 5 mg/kg of either saline, or prednisolone intragastrically, daily over 3 weeks, or prednisolone in combination with vitamin D (at a dose of 800 IU/kg). The adrenals were fixed in a mixture of formalin-ethanol-acetic acid, embedded in paraffin and serial sections were made which were stained with hematoxylin and eosin. It was found that although vitamin D was beneficial for normalization of proliferation and apoptosis of adrenal cortical cells changed under the exposure to prednisolone, it did not contribute to recovering of the gland size. Vitamin D in combination with prednisolone contributed to storing of lipofuscin in the reticular layer of the adrenal cortex.

Keywords: rats, adrenal cortex, prednisolone, vitamin D, mitosis, apoptosis, lipofuscin

For citation: Astrowski A. A., Gurynovich V. A., Maksimchyk Yu. Z., Astrowskaya A. B., Arekhau S. D., Moiseenok A. G. Changes in the histological structure of rat adrenal glands exposed to prednisolone and its combination with vitamin D. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series,* 2017, no. 4, pp. 77–85 (in Russian).

Уводзіны. Вітамін D быў адкрыты ў 1920-я гады як рэчыва, якое неабходна для фарміравання касцявой тканкі [1]. У сярэдзіне XX ст. высветлілася, што вітамін D мае гарманальныя ўласцівасці [2–4] і можа ўдзельнічаць у рэгуляцыі прадукцыі стэроідных гармонаў [5].

На паверхні клетак і ў іх ядрах знаходзіцца рэцэптар да вітаміна D – VDR [3, 4, 6], праз які вітамін уплывае на працэсы клеткавай праліферацыі і дыферэнцыроўкі [7]. Ёсць такі рэцэптар і ў надныркавых залозах млекакормячых [3, 7, 8]. Хаця, напрыклад, у коркавым слаі надныркі мышэй яго можа і не быць [9].

На лабараторных пацуках паказана, што вітамін D стымулюе дзяленне храмафінных клетак мазгавога рэчыва надныркавых залоз [10], але магчымасці ўплыву гэтага вітаміна-гармона

на праліферацыю клетак кары дадзеных органаў да сённяшняга дня застаюцца неправеранымі. Глыбей даследаваць уздзеянне вітаміна D на надныркавыя залозы прапануюць і клініцысты [8].

Прэднізалон, як і іншыя глюкакартыкоіды, пры працяглым увядзенні ў арганізм выклікае атрафію кары наднырнікаў [11] і, верагодна, здольны памяншаць экспрэсію рэцэптара VDR [12].

Сучасныя даследаванні холекальцыферола як вітаміна-гармона дазволілі сфармуляваць уяўленне пра вітамін D як фактар з пашыраным спектрам біялагічных функцый, які мае дачыненне да рэгуляцыі тонуса сасудаў, анкапратэкцыі, функцыянальнага стану мышачнай і нервовай сістэм і інш. Выяўлена супрацьзапаленчая і імунамадулюючая дзейнаць гарманальнай формы – 1,25-дзігідроксіхолекальцыферола (1,25(OH)D_3), так званага кальцытрыёла [2, 3]. Гэта сведчыць аб шчыльнай функцыянальнай сувязі D-вітаміннага статусу арганізма млекакормячых і стану кары іх надныркавых залоз. Нарэшце, субхранічнае ўвядзенне прэднізалону можа быць выкарыстана для мадэлявання D-вітаміннай недастатковасці.

Мэта дадзенага даследавання – выяўленне і ацэнка з дапамогай новага падыхода, заснаванага на магчымасцях сучаснай лічбавай тэхнікі, зрухаў у морфафункцыянальнай арганізацыі кары надныркавых залоз лабараторных пацукоў пасля адначасовага (фактычна канкурэнтнага) уздзеяння вітаміна D і прэднізалона.

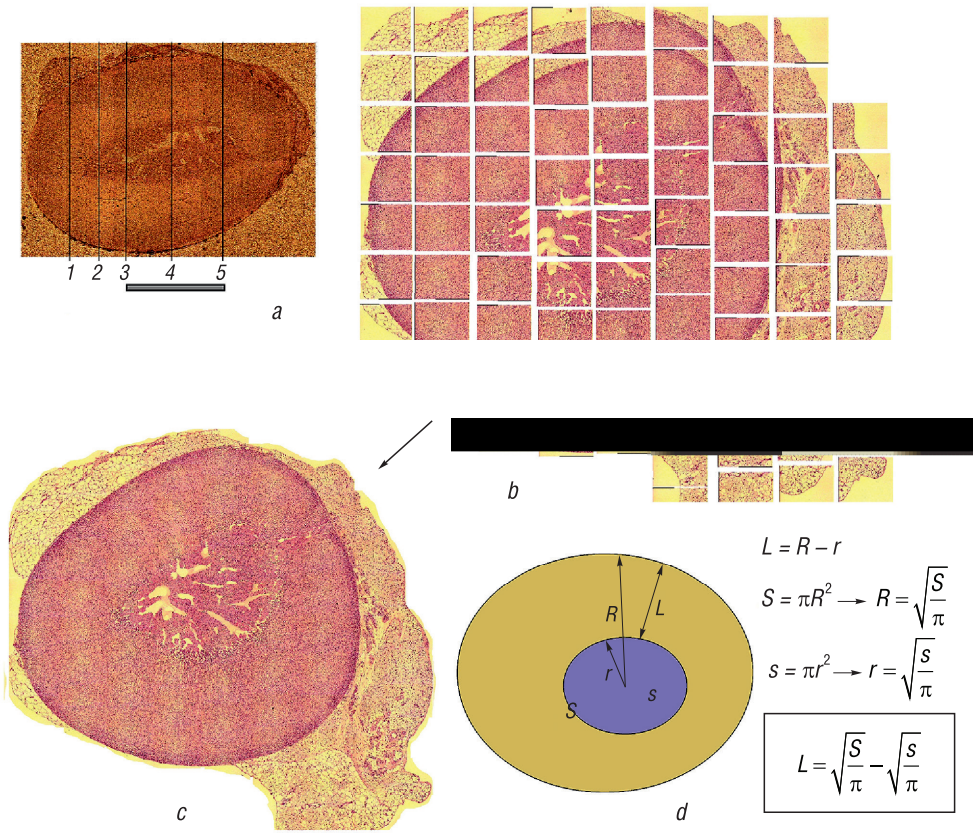
Матэрыялы і метады даследавання. Было выкарыстана 18 белых лабараторных пацукоў-самцоў масай 170 ± 24 г. Жывёлы выпадковым чынам былі падзелены на тры групы па 6 асобін у кожнай і размешчаны ў асобных клетках. Пацукам на працягу 21 сут унутрыстраўнікава ўводзілі альбо фізіялагічны раствор хларыда натрыя (жывёлы першай кантрольнай групы), альбо 5 мг/кг масы распушчанага ў фізрастворы прэднізалону (другая група), альбо прэднізалон у адзначанай дазіроўцы разам з 800 МА/кг масы вітаміна D (трэцяя група).

Пасля ўвядзення названых рэчываў пацукоў забівалі шляхам хуткай дэкапітацыі. Ускрывалі брушную поласць і ў кожнага з пацукоў забіралі левую надныркавую залозу. Яе фіксавалі ў сумесі 40 %-нага фармаліна, 96-градуснага этылавага спірту, канцэнтраванай воцатнай кіслаты (суадносіны вадкасцяў 9 : 3 : 1 адпаведна). У далейшым органы прамывалі праточнай вадой, абязводжвалі ў спіртах і ксілоле, залівалі ў парафін (падчас заліўкі залозы размяшчалі з улікам іх авальнай формы, каб павялічыць верагоднасць атрымання прадольных зрэзаў). Пазней рабілі серыйныя зрэзы залоз таўшчынёй 4 мкм.

Каб не прапусціць цэнтральную зону залозы, выкарыстоўвалі наступны падыход. Калі ў ходзе рэзкі пачынала зрэзвацца тканка надныркавай залозы, распраўленыя на вадзе парафінавыя зрэзы размяшчалі на шкле і праглядалі ў мікраскоп. Калі ў зрэзах прысутнічала толькі кара надныркавай залозы (мал. 1, *a*; лінія *1*), такія зрэзы выключалі з даследавання. Як толькі разам з карой пачынала рэзацца і мазгавое рэчыва, на прадметнае шкло з кожных 20–25 зрэзаў бралі 5. Па меры таго, як павялічвалася верагоднасць рэзання менавіта цэнтральнай часткі органа, на прадметнае шкло бралі 5 зрэзаў з кожных 10–15. Так рабілі да таго моманту, пакуль на парафінавых зрэзах не пачынаў памяншацца памер мазгавога рэчыва (мал. 1, *a*).

Усе абраныя для далейшага даследавання зрэзы афарбоўвалі гематаксілінам Карачы і эазінам. Затым, праглядаючы зрэзы ў мікраскоп, ад кожнай залозы выбіралі той зрэз, плошча мазгавога рэчыва якога была найбольшай. Гэты зрэз лічылі цэнтральным, г. зн. галоўным для кожнай залозы. Яго фатаграфавалі з дапамогай лічбавай фотакамеры (Panasonic color CCTV camera WV-CP410/G), выкарыстоўваючы аб'ектыў з 10-кратным павелічэннем (мал. 1, *b*). Прычым рабілі гэта так, каб кожнае чарговае поле зроку перакрывала папярэднія накшталт чарапіцы. З атрыманых фота з дапамогай кампутарнай праграмы Paint складалі поўнае электроннае фота цэнтральнага зрэза кожнага наднырніка (мал. 1, *c*).

На атрыманых фота цёмным колерам праводзілі дзве тонкія лініі. Адна з іх пазначала вонкавы край коркавага рэчыва, другая – мяжу паміж сеткавай зонай кары і мазгавым рэчывам. Арыентуючыся на гэтыя лініі, з дапамогай кампутарнай праграмы Image-Pro Plus у ручным рэжыме вымяралі агульную абсалютную плошчу папярочнага зрэза органа і абсалютную плошчу мазгавога рэчыва на зрэзе (у мм^2). На падставе атрыманых даных вылічвалі абсалютную і адносную плошчу коркавага рэчыва на зрэзах (у мм^2 і ў % адпаведна). Знаходзілі таксама сярэднюю таўшчыню кары. Пры гэтым зрэз надныркавай залозы ўяўлялі як два колы, устаўле-



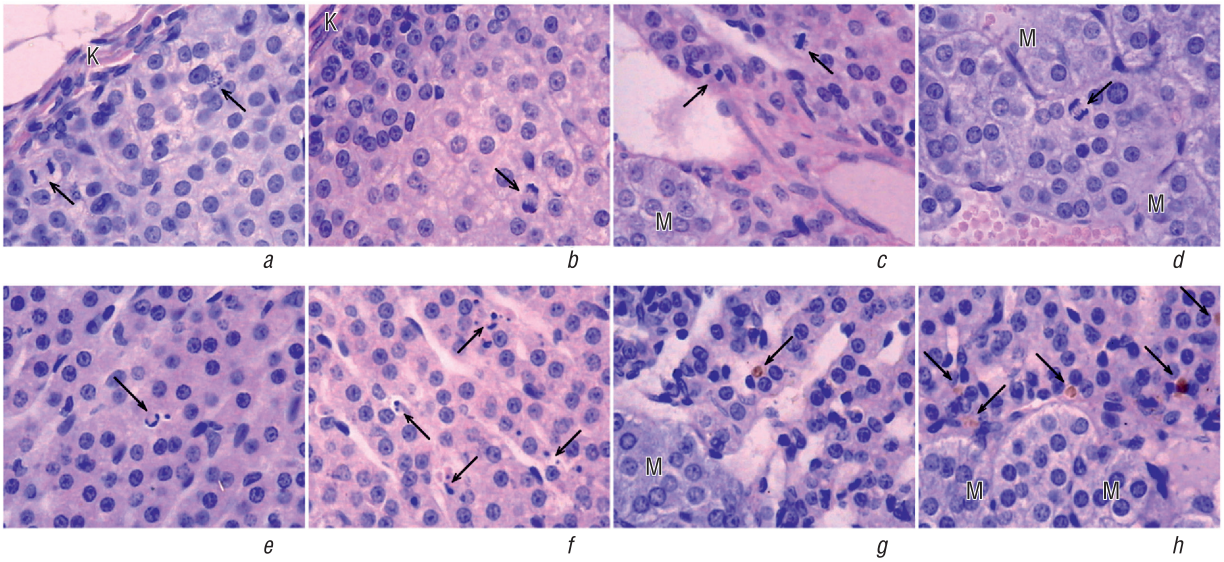
Мал. 1. Некаторыя этапы выяўлення цэнтральнага зрэза, яго фатаграфавання і вымярэння: *a* – фота неафарбаванага парафінавага зрэза надныркавай залозы пацука з нанесенымі лініямі, якія праходзяць праз коркавае (лінія *1*) і мазгавое (лініі *2–5*) рэчывы органа. Зрэзы, якія браліся для афарбоўкі і наступнага вывучэння ў мікраскопе, належалі да інтэрвала *3–5*. Цэнтральным з'яўляўся зрэз, які праходзіў па лініі *4*; *b–c* – выраб поўнага фота цэнтральнага зрэза залозы з асобных фота (×100); *d* – формула для вылічэння сярэдняй таўшчыні кары надныркавых залоз пацукоў (*L*). Гэты паказчык знаходзілі па розніцы паміж сярэднімі радыусамі залозы і яе мазгавога рэчыва ($L = R - r$)

Fig. 1. Some steps in finding of the "central" section and its photographing and measuring: *a* – photo of unstained paraffin rat adrenal section with superimposed lines which go across cortical (line *1*) and medullary substances of the organ (lines *2–5*). Sections which were taken for staining and subsequent microscopic examination belonged to the intervals *3–5*. The central is the section which goes on the line *4*; *b–c* – a complete photo of the central gland section made of individual photos (×100); *d* – deriving a formula for calculation of the rat adrenal cortex average thickness (*L*). This parameter was found from the difference between the average gland radius and the average radius of its medullary substance ($L = R - r$)

ныя адно ў адно. Таўшчыню кары вылічвалі як розніцу паміж радыусамі гэтых колаў (радыусы ў сваю чаргу знаходзілі, ведаючы плошчу колаў; гл. мал. 1, *d*).

Дадаткова, праглядаючы прэпарат пры 400-кратным павелічэнні у рэжыме сканіравання, падлічвалі колькасць мітатычных фігур, якія можна было знайсці на цэнтральным зрэзе кары надныркі (пры гэтым улічвалі таксама, у якім слаі быў заўважаны мітоз – клубочкавым, пучковым ці сеткавым (мал. 2, *a–d*); падлічвалі колькасць мітозаў у мазгавым рэчыве на трох зрэзах (цэнтральным і двух суседніх); колькасць груп апаптатычных цельцаў у кары на цэнтральным зрэзе органа (за адну групу апаптатычных цельцаў прымалі не менш за два апаптатычныя цельцы, утвораныя з матэрыялу ядра клеткі, якія знаходзіліся адзін ад аднаго на адлегласці, не большай за памер адной клеткі (мал. 2, *e, f*); таксама падлічвалі колькасць плям ліпафусцына (мал. 2, *g, h*), якія знаходзіліся на тэрыторыі сеткавай зоны кары цэнтральнага зрэза органа на адлегласці не большай за адно поле зроку мікраскопа (×400) ад вонкавага краю мазгавога рэчыва. Атрыманыя паказчыкі суадносілі са знойдзенай раней плошчай кары і мазгавога рэчыва надныркаў.

Усе атрыманыя колькасныя даныя апрацоўвалі з дапамогай статыстычнай праграмы STATISTICA 10. Вынікі падавалі як сярэдняе арыфметычнае ± памылка сярэдняй (M ± m). Для ацэнкі дакладнасці адрозненняў паміж сярэднімі выкарыстоўвалі *t*-крытэрый Ст'юдэнта. Даставернымі лічылі адрозненні пры $p < 0{,}05$.



Мал. 2. Фігуры мітозаў (*a* – *d*) у надныркавых залозах пацукоў (*a* – у клубочкавым слаі кары, *b* – у пучковым слаі, *c* – у сеткавым слаі, *d* – мітоз храмафіннай клеткі мазгавога рэчыва наднырніка); адна і некалькі груп апаптатычных цельцаў у коркавым рэчыве надныркавых залоз (*e* – *f*); плямкі ліпафусцына (адна і некалькі) у сеткавым слаі кары наднырнікаў (*g*–*h*). К – капсула наднырніка; М – мазгавое рэчыва. Адпаведныя структуры паказаны стрэлкамі. ×400

Fig. 2. Mitoses (*a*– *d*) in the rat adrenal glands: *a*, in the cortex glomerular layer, *b*, in fascicular cortex layer; *c*, in the reticular layer; *d*, mitosis in chromaffin cell of adrenal medullary substance; *e* – *f*: stains of lipofuscin (one or several) in adrenal cortex reticular layer; *g*–*h*. K – adrenal capsule; M – medullary substance. The corresponding structures are indicated by the arrows. ×400

Вынікі і іх абмеркаванне. У даследаванні выкарыстаны новы падыход да морфаметрычнай характарыстыкі надныркавых залоз пацукоў, заснаваны на выяўленні і наступным морфаметрычным аналізе цэнтральнага зрэза, г. зн. зрэза з найбольшай абсалютнай плошчай мазгавога рэчыва.

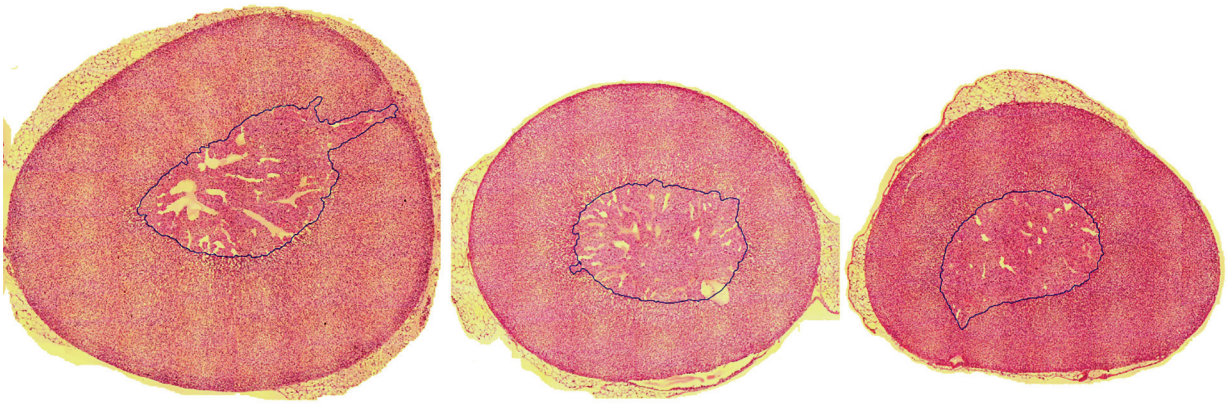
Вынікі нашага даследавання паказалі, што ў жывёл кантрольнай групы, напрыклад, адносная плошча мазгавога рэчыва займала на цэнтральным зрэзе органа ў сярэднім 14,4 % ад усёй плошчы зрэза. Пры аналагічных вымярэннях, зробленых на аснове ранейшых тэхнічных магчымасцяў, гэты паказчык у сярэднім складаў 12,1 % [13], што блізка да атрыманага намі значэння.

Калі ўзяць за аснову наднырнік аднаго з пацукоў кантрольнай групы з найбольшай доляй мазгавога рэчыва на зрэзе (18,9 %) і яго абсалютныя параметры (абсалютная плошча наднырніка на зрэзе 6,19 мм^2, абсалютная плошча мазгавога рэчыва на зрэзе 1,17 мм^2), то, ведаючы формулу сувязі паміж аб'ёмам шара і яго радыусам ($V = 4/3\pi r^3$), а таксама выкарыстаўшы мадэль двух шароў, устаўленых адзін у адзін (гл. мал. 1, *d*), можна разлічыць, што абсалютны аб'ём мазгавога рэчыва ў дадзеным выпадку быў каля 0,95 мм^3, або каля 8,2 % ад аб'ёму ўсяго наднырніка. У большасці пацукоў кантрольнай групы гэтыя параметры былі меншымі. Пры гэтым варта адзначыць, што аб'ём мазгавога рэчыва чалавека складае каля 9 % ад аб'ёму яго надныркавых залоз [14].

Зрэзы тыповых надныркавых залоз, узятых у жывёл трох груп, паказаны ў параўнанні на мал. 3. Бачна, што залозы жывёл «прэднізалонавай» і «прэднізалонава-вітаміннай» груп маюць меншыя памеры, чым залозы жывёл кантрольнай групы.

Даныя, датычныя памераў залоз, іх мазгавой і коркавай частак, прыведзены ў табл. 1. З іх вынікае, што прэднізалон у выкарыстанай дозе выклікаў даставернае памяншэнне як агульнага памеру надныркавых залоз, так і абсалютнага ды адноснага памераў іх кары, а таксама памяншаў таўшчыню апошняй. Пры гэтым абсалютная плошча мазгавога рэчыва, як бачна на цэнтральных папярочных зрэзах, даставерна не змянялася.

Дадатковае ўвядзенне вітаміна D не паўплывала на адзначаныя зрухі – у жывёл, якім уводзілі прэднізалон разам з вітамінам D, усе вымераныя паказчыкі былі такімі ж, як і ў групе пацукоў, якім уводзілі адзін прэднізалон.



a *b* *c*

Мал. 3. Прыкладныя суадносіны памераў надныркавых залоз, узятых у «кантрольнага» (*a*), «прэднізалонавага» (*b*) і «прэднізалонава-вітаміннага» (*c*) пацукоў. Мяжа паміж карой і мазгавым рэчывам органа дадаткова пазначана лініяй

Fig. 3. Approximate relationships between the sizes of adrenal glands taken from control rats (*a*), prednisolone-treated rats (*b*) and rats treated by a combination of prednisolone and vitamin D (*c*). The border between cortex and medullary substance was additionally indicated by a line

У тканках усіх надныркавых залоз можна было выявіць клеткі ў стане мітатычнага дзялення, групы апаптатычных цельцаў, якія размяшчаліся пераважна на мяжы пучковай і сеткавай зон кары, жоўта-карычневыя плямкі ліпафусцына, якія знаходзіліся ў сеткавым пласце коркавага рэчыва наднырнікаў пераважна паблізу ад мазгавога рэчыва. Даныя, якія характарызуюць уплыў прэднізалона і яго камбінацыі з вітамінам D на колькасць названых стуктур, прыведзены ў табл. 2, 3.

Як вынікае з табл. 2, 3, увядзенне прэднізалона выклікала істотнае памяншэнне праліферацыі клетак ва ўсіх слаях коркавага рэчыва і даставерна не ўплывала на аналагічны працэс у мазгавым рэчыве. Гэтае ж уздзеянне на арганізм жывёл вяло да павелічэння праяў апаптозу і тэндэнцыі да назапашвання глыбак ліпафусцыну ў кары наднырнікаў (заўвага: пры разліку па Мана–Уітні даставернасці павелічэння колькасці груп апаптатычных цельцаў пад уплывам прэднізалона $p < 0{,}05$).

Увядзенне ў арганізм жывёл разам з прэднізалонам вітаміна D вяртала ўсе параметры мітатычнай актыўнасці да нармальных значэнняў. Практычна тое ж адбылося і з актыўнасцю апаптозу. Аднак назапашванне ліпафусцына ў наднырніках не толькі не паменшылася (ці засталося на «прэднізалонавым» узроўні), а істотна павялічылася.

Такім чынам, на працэс праліферацыі клетак коркавага рэчыва надныркавых залоз, а таксама на іх апаптоз прэднізалон і вітамін D аказалі супрацьлеглае ўздзеянне – блакавалі ўплыў адзін аднаго. Што да працэсу ўтварэння ліпафусцына, відавочна праяўленне сінэргічнага эфекта.

Т а б л і ц а 1. **Змена асноўных анатама-гісталагічных паказчыкаў будовы надныркавых залоз пацукоў пад уплывам прэднізалона і прэднізалона ў камбінацыі з вітамінам D**

T a b l e 1. **Changes in the main anatomic and histological indices in the structure of rat adrenal glands under exposure to prednisolone and prednisolone in combination with vitamin D**

Група	Абсалютная плошча, мм^2			Адносная плошча кары на зрэзе, %	Таўшчыня кары, мм
	надныркавай залозы на зрэзе	кары на зрэзе	мазгавога рэчыва на зрэзе		
Кантроль	5,59 ± 0,45	4,77 ± 0,36	0,82 ± 0,11	85,6 ± 1,17	0,82 ± 0,03
Прэднізалон	3,86 ± 0,46**	3,14 ± 0,37**	0,73 ± 0,10	81,2 ± 0,84**	0,62 ± 0,04**
Прэднізалон + вітамін D	3,59 ± 0,19**	2,88 ± 0,19**	0,71 ± 0,01	79,9 ± 1,04**	0,59 ± 0,03**

З а ў в а г а. Дакладнасць адрозненняў у параўнанні з кантрольнай групай: * – $p < 0{,}1$; ** – $p < 0{,}05$. Тое ж у табл. 2, 3.

Т а б л і ц а 2. **Змена мітатычнай актыўнасці ў надныркавых залозах пацукоў пад уплывам прэднізалона і прэднізалона ў камбінацыі з вітамінам D**

T a b l e 2. **Changes in mitotic activity in rat adrenal glands under exposure to prednisolone and prednisolone in combination with vitamin D**

Група	Колькасць мітозаў у кары надныркавых залоз у разліку на 1 мм² плошчы зрэза				Колькасць мітозаў у разліку на 1 мм² плошчы мазгавога рэчыва
	усяго	у клубочкавым слаі	у пучковым слаі	у сеткавай зоне	
Кантроль	3,66 ± 0,47	1,78 ± 0,33	1,17 ± 0,17	0,70 ± 0,17	1,04 ± 0,34
Прэднізалон	0,91 ± 0,34**	0,49 ± 0,16**	0,21 ± 0,16**	0,22 ± 0,10**	0,69 ± 0,27
Прэднізалон + вітамін D	4,25 ± 1,37	1,51 ± 0,49	1,45 ± 0,61	1,30 ± 0,69	0,695 ± 0,26

Т а б л і ц а 3**. Колькасць груп апаптатычных цельцаў і плям ліпафусцына ў кары наднырнікаў пад уплывам прэднізалона і прэднізалона ў камбінацыі з вітамінам D**

T a b l e 3. **Apoptotic bodies and lipofuscin in adrenal cortex under exposure to prednisolone and prednisolone in combination with vitamin D**

Група	Колькасць груп апаптатычных цельцаў у коркавым рэчыве		Колькасць плям ліпафусцына ў сеткавай зоне коркавага рэчыва на цэнтральным зрэзе органа
	на цэнтральным зрэзе органа	у разліку на 1 мм² зрэза	
Кантроль	1,17 ± 0,48	0,24 ± 0,095	4,3 ± 1,0
Прэднізалон	61,8 ± 28,6**	18,2 ± 8,52**	18,8 ± 7,3*
Прэднізалон + вітамін D	1,67 ± 0,42	0,62 ± 0,16*	48,2 ± 8,5**

Тое, што ў цытаплазме клетак сеткавай зоны кары надныркавых залоз знаходзіцца «пігмент старэння» ліпафусцын, шырока вядома [15, 16]. Але ж на атрыманых фота бачна, што ліпафусцын размешчаны ў гэтай зоне не толькі дыфузна, а і сканцэнтраваны ў цытаплазме асобных клетак (гл. мал. 2, *g, h*). Верагодна, што ў асабліва вялікай колькасці назапашваюць ліпафусцын не столькі клеткі сеткавай зоны кары, дыферэнцаваныя для выпрацоўкі палавых гармонаў, колькі макрафагі [17, 18], якія фагацытуюць састарэлыя клеткі кары, а недэградуемы ферментамі лізасом ліпафусцын назапашваюць у цытаплазме.

Па выніках даследавання таксама паўстала пытанне: чаму нармалізацыя праліфератыўнай актыўнасці клетак надныркавых залоз і іх апаптозу (таго, што было істотна зменена ўвядзеннем прэднізалона) не забяспечыла ні аднаўлення нармальных памераў гэтых органаў, ні аб'ёму іх коркавага рэчыва (гл. табл. 1)?

Можна прапанаваць дзве версіі:

1) як толькі вітамін D ініцыяваў (у канцы 21-сутачнага перыяду яго ўвядзення) станоўчы ўплыў на праліфератыўную актыўнасць клетак, наступаў канец эксперыменту, а таму вітамін не паспеваў паўплываць на вяртанне да нормы памераў залоз;

2) вітамін D, стымулюючы праліфератыўную актыўнасць клетак кары надныркавых залоз, адначасова інтэнсіфікуе працу своеасаблівага «клеткавага канвеера» (калі клетка, утвораная са ствалавой у раёне клубочкавай зоны кары, перамяшчаецца ў пучковую, затым у сеткавую зону, пакуль не выходзіць на мяжу з мазгавым рэчывам, дзе заканчвае свой жыццёвы цыкл [19, 20]), які пачынае працаваць у паскораным рэжыме. Пры такім эфекце сапраўды можа не назірацца істотнага ўплыву павышэння мітатычнай актыўнасці клетак кары на памеры органа.

Дарэчы, апошні варыянт тлумачэння падмацоўвае факт, што менавіта пры сумесным прызначэнні прэднізалона і вітаміна D у найбольшай ступені павялічвалася колькасць плям ліпафусцына ў сеткавай зоне кары (табл. 3). Прычым іх станавілася больш не толькі ў параўнанні з кантролем, але і ў параўнанні з паказчыкамі чыста «прэднізалонавай» групы (больш загінулых клетак кары фагацытавана – больш ліпафусцына назапашана).

Гэта гіпотэза патрабуе праверкі, як і высвятленне пытання, ці здольна сеткавая зона кары надныркавых залоз вызваліцца ад ліпафусцынавых «запасаў», калі спыніцца ўздзеянне чыннікаў, якія выклікалі такое анармальнае назапашванне?

Такім чынам, адчыняецца новая старонка вывучэння «пазакасцявых» эфектаў холекацыферола, які, магчыма, праз функцыі 1,25(OH)D_3 і VDR-рэцэпцыю можа выступаць у якасці «рэгулятара» марфагенезу клетак кары надныркавых залоз. Аб гэтым сведчаць і рэгуляцыя кальцытрыёлам экспрэсіі шматлікіх генаў, і мадуляцыя унутрыклеткавых сігнальных каскадаў [2], што тлумачыць плейятропныя функцыі вітаміна D.

Нарэшце, вяртаючыся да асноўнай мэты дадзенага даследавання, варта звярнуць увагу на тое, што атрыманы вынік – а менавіта фенамен, што вітамін D ва ўплыве на праліферацыю і апаптоз клетак кары надныркавых залоз з'яўляецца антаганістам прэднізалона – можа мець істотнае значэнне для медыцынскай практыкі. Прызначэнне пацыетнам вітаміна D можа аказацца карысным на фоне ўвядзення вялікіх доз прэднізалона (ці іншых глюкакартыкоідаў) і паспрыяць памяншэнню магчымых непажаданых ўскладненняў, якія агульнавядомыя пры прэднізалонатэрапіі.

Заключэнне. Прэднізалон пасля штосутачнага ўнутрыстраўнікавага ўвядзення пацукам у дозе 5 мг/кг масы на працягу 3 тыдняў выклікае памяншэнне агульных памераў надныркавых залоз пераважна за кошт памяншэння аб'ёма коркавага рэчыва. Пры гэтым памяншаецца праліферацыя клетак кары, у пэўнай ступені павялічваецца іх апаптоз, назіраецца тэндэнцыя да назапашвання ліпафусцына. Дадатковае ўвядзенне вітаміна D у дозе 800 МА/кг масы жывёл спрыяе нармалізацыі праліферацыі і апаптозу клетак кары надныркавых залоз, змененых пад уплывам прэднізалона, аднак не вядзе да аднаўлення іх памераў і дадаткова спрыяе назапашванню ліпафусцыну ў сеткавай зоне кары.

Атрыманыя вынікі патрабуюць больш глыбокага вывучэння ўзаемадзеяння вітаміна D з глюкакартыкоідамі ва ўздзеянні на кару надныркавых залоз млекакормячых, а таксама вывучэння магчымасці выкарыстання вітаміна D у медыцынскай практыцы ў якасці рэчыва, патэнцыйна здольнага зніжаць негатыўныя наступствы як прымянення вялікіх доз глюкакартыкоідаў, так і іх адмены.

Падзякі. Праца выканана ў межах праекта 5.11 «Аптымізацыя біядаступнасці вітаміна D пры недастатковасці вітаміна і выкарыстанні розных кальцый-утрымліваючых субстанцый» ДПНД «Хімічныя тэхналогіі і матэрыялы».

Acknowledgements. This work was performed as a part of the project 5.11 "Optimization of bioavailability of vitamin D under its deficiency and by the use of different calcium containing substances" of SPSR "Chemical technologies and materials".

Канфлікт інтарэсаў. Аўтары заяўляюць аб адсутнасці канфлікту інтарэсаў.

Спіс выкарыстаных крыніц

1. Wolf, G. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus / G. Wolf // J. of Nutrition. – 2004. – Vol. 134, N 6. – P. 1299–1302.

2. Громова, О. А. Витамин D – смена парадигмы / О. А. Громова, И. Ю. Торшин. – М. : Торус Пресс, 2015. – 464 с.

3. Vitamin D: a pleiotropic hormone / A. Verstuyf [et al.] // Kidney Int. – 2010. – Vol. 78, N 2. – P. 140–145.

4. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states / M. R. Haussler [et al.] // J. Endocrinol. – 1997. – Vol. 154, suppl. – P. 57–73.

5. Lundqvist, J. Vitamin D as a regulator of steroidogenic enzymes / J. Lundqvist // Biochim. Biophys. Acta. – 2010. – Vol. 1801, N 9. – P. 1056–1062.

6. Khanal, R. Membrane receptors for vitamin D metabolites / R. Khanal, I. Nemere // Crit. Rev. Eukaryot Gene Expr. – 2007. – Vol. 17, N 1. – P. 31–47.

7. Wang, Y. Where is the vitamin D receptor? / Y. Wang, J. Zhu, H. F. DeLuca // Arch. Biochem. Biophys. – 2012. – Vol. 523, N 1. – P. 123–133.

8. Focus on vitamin D and the adrenal gland / G. Muscogiuri [et al.] // Horm. Metab. Res. – 2015. – Vol. 47, N 4. – P. 239–246.

9. Vitamin D increases expression of the tyrosine hydroxylase gene in adrenal medullary cells / E. Puchacz [et al.] // Brain Res. Mol. Brain Res. – 1996. – Vol. 36, N 1. – P. 193–196.

10. Vitamin D3-induced proliferative lesions in the rat adrenal medulla / A. S. Tischler [et al.] // Toxicol. Sci. – 1999. – Vol. 51, N 1. – P. 9–18.

11. Hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during and after steroid therapy: recent data and critical review / B. Goichot [et al.] // Ann. Endocrinol. (Paris). – 2000. – Vol. 61, N 5. – P. 452–458.

12. Glucocorticoids decrease vitamin D receptor number and gene expression in human osteosarcoma cells / M. Godschalk [et al.] // J. Bone Miner. Res. – 1992. – Vol. 7, N 1. – P. 21–27.

13. Яглова, Н. В. Структурные и функциональные изменения мозгового вещества надпочечников крыс в пубертатном периоде, подвергавшихся воздействию низких доз эндокринного дисраптора дихлордифенилтрихлорэтана в пренатальном и постнатальном этапах развития / Н. В. Яглова, Д. А. Цомартова, В. В. Яглов // Междунар. науч.-исслед. журн. – 2016. – № 8. – Ч. 2. – С. 34–36.

14. Kreiner, E. Weight and shape of the humanadrenalmedulla in various age groups / E. Kreiner // Virchows Arch. A Pathol. Anat. Histol. – 1982. – Vol. 397 (1). – P. 7–15.

15. Advanced glycosylation end products in adrenal lipofuscin / I. Shimokawa [et al.] // J. Gerontol. Series A. Biol. Sci. Med. Sci. – 1998. – Vol. 53, N 1. – P. B49–B51.

16. Terman, A. Lipofuscin / A. Terman, U. T. Brunk // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2004. – Vol. 36, N 8. – P. 1400–1404.

17. Ward, J. M. Morphological and histochemical characteristics of pigments in aging F344 rats / J. M. Ward, H. Reznik-Schuller // Vet. Pathol. – 1980. – Vol. 17, N 6. – P. 678–685.

18. Macrophages within the human adrenal gland // J. A. González-Hernández [et al.] / Cell Tissue Res. – 1994. – Vol. 278, N 2. – P. 201–205.

19. Ford, J. K. Cell proliferation and displacement in the adrenal cortex of young rats injected with tritiated thymidine / J. K. Ford, R. W. Young // Anat. Record. – 1963. – Vol. 146, N 2. – P. 125–137.

20. Mitani, F. Functional zonation of the rat adrenal cortex: the development and maintenance / F. Mitani // Proc. Jpn. Acad. Ser. B. – 2014. – Vol. 90 (5). – P. 163–183.

References

1. Wolf G. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. *The Journal of Nutrition*, 2004, vol. 134, no. 6, pp. 1299–1302.

2. Gromova O., Torshin I. *Vitamin D – the shift of paradigm*. Moscow, Torus Press Publ., 2015. 464 p. (in Russian).

3. Verstuyf A., Carmeliet G., Bouillon R., Mathieu Ch. Vitamin D: a pleiotropichormone. *Kidney International*, 2010, vol. 78, no. 2, pp. 140–145. DOI: 10.1038/ki.2010.17

4. Haussler M. R., Haussler C. A., Jurutka P. W., Thompson P. D., Hsieh J. C., Remus L. S., Selznick S. H., Whitfield G. K. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *Journal of Endocrinology*, 1997, vol. 154, suppl., pp. S57–S73.

5. Lundqvist J. Vitamin D as a regulator of steroidogenic enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2010, vol. 1801, no. 9, pp. 1056–1062.

6. Khanal R., Nemere I. Membrane receptors for vitamin D metabolites. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 2007, vol. 17, no. 1, pp. 31–47.

7. Wang Y., Zhu J., DeLuca H. F. Where is the vitamin D receptor? *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2012, vol. 523, no. 1, pp. 123–133. DOI: 10.1016/j.abb.2012.04.001

8. Muscogiuri G., Altieri B., Penna-Martinez M., Badenhoop K. Focus on vitamin D and the adrenal gland. *Hormone and Metabolic Research*, 2015, vol. 47, no. 4, pp. 239–246. DOI: 10.1055/s-0034–1396893

9. Puchacz E., Stumpf W. E., Stachowiak E. K., Stachowiak M. K. Vitamin D increases expression of the tyrosine hydroxylase gene in adrenal medullary cells. *Brain Research. Molecular Brain Research*, 1996, vol. 36, no. 1, pp. 193–196. DOI: 10.1016/0169–328X(95)00314-I

10. Tischler A. S., Powers J. F., Pignatello M., Tsokas P., Downing J. C., McClain R. M. Vitamin D3-induced proliferative lesions in the rat adrenal medulla. *Journal of Toxicological Sciences*, 1999, vol. 51, no. 1, pp. 9–18.

11. Goichot B., Wicky C., Grunenberger F., Schlienger J. L. Hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during and after steroid therapy: recent data and critical review. *Annals of Endocrinology* (Paris), 2000, vol. 61, no. 5, pp. 452–458.

12. Godschalk M., Levy J. R., Downs R. W. Glucocorticoids decrease vitamin D receptor number and gene expression in human osteosarcoma cells. *Journal of Bone and Mineral Research*, 1992, vol. 7, no. 1, pp. 21–27.

13. Iaglova N. V., Tsomartova D. A., Iaglov V. V. Altered structure and function of rat adrenal medulla in puberty after prenatal and postnatal exposure to endocrine disrupting chemical dichlorodiphenyltrichloroethane. *Mezhdunarodnyi nauchno-issledovatel'skii zhurnal* [International Research Journal], 2016, vol. 8, part 2, pp. 34–36 (in Russian). DOI: 10.18454/IRJ.2016.50.098

14. Kreiner E. Weight and shape of the humanadrenalmedulla in various age groups. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histol*., 1982, vol. 397, no. 1, pp. 7–15.

15. Shimokawa I., Higami Y., Horiuchi S., Iwasaki M., Ikeda T. Advanced glycosylation end products in adrenal lipofuscin. *The Journals of Gerontology. Series A. Biological Sciences and Medical Sciences*, 1998, vol. 53, no. 1, pp. B49–B51.

16. Terman A., Brunk U. T. Lipofuscin. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2004, vol. 36, no. 8, pp. 1400–1404.

17. Ward J. M., Reznik-Schuller H. Morphological and histochemical characteristics of pigments in aging F344 rats. *Veterinary Pathology*, 1980, vol. 17, no. 6, pp. 678–685.

18. González-Hernández J. A., Bjrnstein Ehrhart-Bjrnstein S. R. M., Geschwend J. E., Adler G., Scherbaum W. A. Macrophages within the human adrenal gland. *Cell and Tissue Research*, 1994, vol. 278, no. 2, pp. 201–205.

19. Ford J. K., Young R. W. Cell proliferation and displacement in the adrenal cortex of young rats injected with tritiated thymidine. *The Anatomical Record*, 1963, vol. 146, no. 2, pp. 125–137. DOI: 10.1002/ar.1091460206

20. Mitani F. Functional zonation of the rat adrenal cortex: the development and maintenance. *Proceedings of the Japan Academy. Series B, Physical and Biological Sciences*, 2014, vol. 90, no. 5, pp. 163–183. DOI: 10.2183/pjab.90.163

Информация об авторах

Островский Александр Александрович – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: astrowski@gmail.com.

Гуринович Валерий Александрович – канд. биол. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: val@bioch.basnet.by.

Максимчик Юрий Зигмундович – мл. науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: yurijmaks@yahoo.com.

Островская Оксана Борисовна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: astrowskaja@gmail.com.

Орехов Сергей Дмитриевич – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230009, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: arekhau57@gmail.com.

Мойсеёнок Андрей Георгиевич – член-корреспондент, д-р биол. наук, профессор, заведующий отделом. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by.

Information about the authors

Alexander A. Astrowski – D. Sc. (Med.), Professor, Leading researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: astrowski@gmail.com.

Valery A. Gurynovich – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: val@bioch.basnet.by.

Yury Z. Maksimchyk – Researcher. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: val@bioch.basnet.by.

Aksana B. Astrowskaya – Ph. D. (Biol.), Senior researcher. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230009, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: astrowskaja@gmail.com.

Sergey D. Arekhau – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus (80, Gorky Str., 230009, Republic of Belarus). E-mail: arekhau57@gmail.com.

Andrey G. Moiseenok – Correspondent Member, D. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Department. Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus (50, BLK, 230030, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: andrey.moiseenok@tut.by.