

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 577.171.7+577.161.2+611.018
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-2-166-174>

Поступила в редакцию 12.09.2018
Received 12.09.2018

А. А. Астроўскі¹, Ю. З. Максімчык¹, В. А. Гурыновіч¹,
А. Б. Астроўская², А. Г. Майсяёнак¹

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

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

Аннотация. Изучена возможность использования витамина D для нормализации гистологической структуры селезенки лабораторных крыс, измененной под воздействием преднизолонa. Животным ежедневно внутривентрикулярно на протяжении 3 недель вводили либо физиологический раствор, либо преднизолон в дозе 5 мг/кг массы, либо преднизолон в комбинации с витамином D (в дозе 800 МЕ/кг). Результаты проведенного морфометрического анализа показали, что введение преднизолонa ведет к значительному уменьшению размеров селезенки, объема белой пульпы и размеров герминативных центров лимфатических фолликулов в ее составе и к увеличению плотности размещения мегакариоцитов в красной пульпе органа. Указанные эффекты преднизолонa в различной степени нивелируются введением витамина D, в частности наблюдается тенденция к нормализации размеров герминативных центров селезенки. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения возможных механизмов коррекции витамином D иммунологической и гемопоэтической функций организма млекопитающих, измененных введением глюкокортикоидов.

Ключевые слова: селезенка крыс, преднизолон, витамин D, белая пульпа, герминативные центры, мегакариоциты, эозинофилы

Для цитирования: Змяненне гісталагічнай структуры селязёнкi пацуюк пад уздзеяннем прэднізалона і яго камбiнацыi з вiтаминам D / А. А. Астроўскі [і інш.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2019. – Т. 16, № 2. – С. 166–174. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-1-166-174>

A. A. Astrowski¹, Yu. Z. Maksimchyk¹, V. A. Gurinovich¹, A. B. Astrowskaja², A. G. Moiseenok¹

¹Institute of Biochemistry of Biologically Active Compounds of the National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, Republic of Belarus

²Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

HISTOLOGICAL CHANGES IN THE SPLEEN OF RATS UNDER THE INFLUENCE OF PREDNISOLONE AND ITS COMBINATION WITH VITAMIN D

Abstract. The possibility of using vitamin D to normalize the histological structure of the spleen changed under the influence of prednisolone in rats was studied. The animals were subjected to the intragastric administration of saline and either prednisolone (5 mg/kg b. w.) or its combination with vitamin D (800 IU/kg) daily for 3 weeks. The results of morphometric analysis of spleen slices reveal that the administration of prednisolone leads to a significant decrease in spleen sizes, white pulp volume, and in sizes of germinal centers of lymphatic follicles within the white pulp, and to an increase in the number of megakaryocytes in the red pulp. Vitamin D alleviates histological changes due to the prednisolone treatment, in particular the substantial restoration in sizes of germinal centers in the spleen has been found. The data obtained suggest the benefits of further studies of possible mechanisms of vitamin D to normalize immunological and hematopoietic functions in subjects subjected to glucocorticoid treatment.

Keywords: rat spleen, prednisolone, Vitamin D, white pulp, germinal centers, megakaryocytes, eosinophils

For citation: Astrowski A. A., Maksimchyk Yu. Z., Gurinovich V. A., Astrowskaja A. B., Moiseenok A. G. Histological changes in the spleen of rats under the influence of prednisolone and its combination with vitamin D. *Vesti Natsyyanal'nei akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 2, pp. 166–174 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-1-166-174>

Уводзіны. Адно з агульнавядомых наступстваў глюкакартыкоіднай тэрапіі – прыгнечанне функцыі імуннай сістэмы. За выключэннем выпадкаў, калі на такі вынік адбываецца адмысловае нацэльванне, адзначаны эфект належыць да непажаданых. У сувязі з гэтым з'яўляецца актуальным пошук рэчываў, якія маглі б, не зніжаючы пазітыўных вынікаў прымянення глюкакартыкоідаў, памяншаць іх прыгнечальны ўплыў на імунную сістэму.

Вітамін D у гарманальнай форме ў многім з'яўляецца антаганістам глюкокартыкоідаў, якія прынцыпова па-рознаму ўзаемадзейнічаюць з клеткавымі рэцэптарамі да вітаміна D [1]. Гэта абгрунтоўвае параўнальнае вывучэнне ўплыву глюкокартыкоідаў на ключавыя органы імуннай сістэмы з іх сумесным з вітамінам D уздзеяннем.

Вядома, што ген *VDR* мае некалькі чулівых да глюкокартыкоідаў элементаў (glucocorticoid response elements) [2], а рэцэптар *VDR* выяўляе кааператыўны эфект з *C/EBP*-рэцэптарам глюкокартыкоідаў у транскрыпцыі $25(\text{OH})\text{D}_3$ -гідраксілазы пад уздзеяннем глюкокартыкоідаў [3]. З іншага боку, вітамін D мадулюе сігналінг праз глюкокартыкоідны рэцэптар, уздзейнічае на экспрэсію генаў, рэгулюемых глюкокартыкоідамі, змяняе чулівасць розных клетак да гармона [4].

Селязёнка, хаця і належыць не да цэнтральных, а да перыферычных органаў імуннай сістэмы, – адзін з самых буйных лімфоідных органаў млекакормячых. У чалавека яна – галоўная крыніца ўтварэння цыркулюючых лімфацытаў і манацытаў, у ёй прадуюцца антыцелы [5]. Гэты орган дэпануе эрытрацыты, трамбацыты і разбурае іх, калі яны састарэлі ці пашкодзіліся [5]. У селязёнцы плада чалавека ўтвараюцца таксама эрытрацыты і гранулацыты, але перад нараджэннем гэтая функцыя перадаецца чырвонаму касцявому мозгу [6]. Аднак у многіх млекакормячых, у адрозненне ад чалавека, селязёнка на працягу ўсяго жацця выконвае шэраг дадатковых функцый [7]. Так, у селязёнцы пацукоў знаходзяцца мегакарыяцыты [8, 9], якія, як вядома, прадуюць трамбацыты [10], а таксама ўтвараюцца і даспяваюць эзінафілы [11–13]. Апошняе дадаткова робіць селязёнку пацука цікавым аб'ектам навуковых пошукаў у сферы вывучэння гемапаэзу.

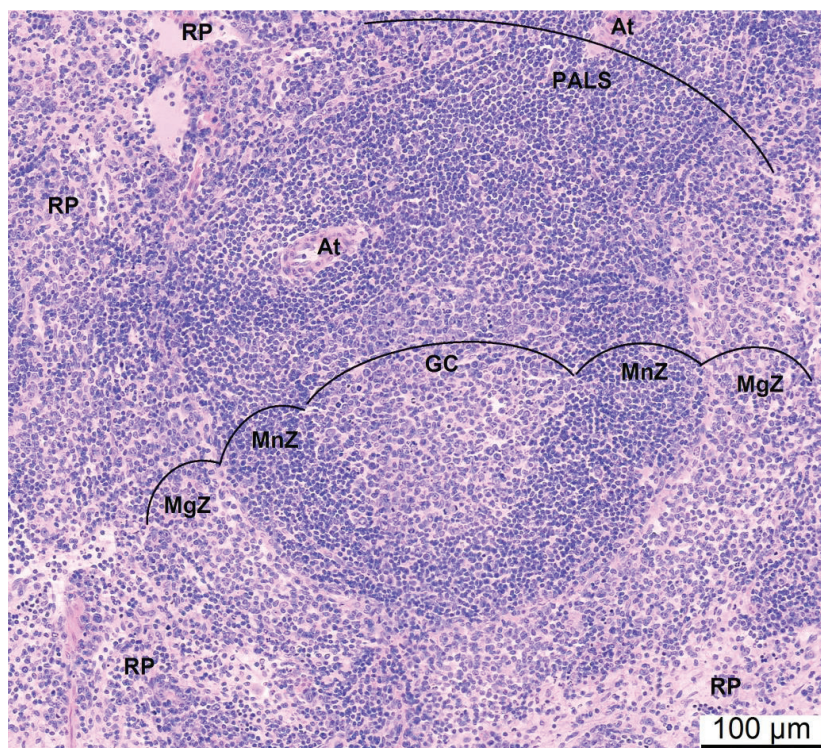
Мэта дадзенага даследавання – выяўленне ўплыву вітаміна D на некаторыя гісталагічныя параметры селязёнкі, якія характарызуюць імуналагічную і гемапаэтычную функцыі органа, змененыя ўвядзеннем прэднізалона.

Матэрыялы і метады даследавання. У даследаванні было выкарыстана 18 белых лабараторных пацукоў-самцоў сярэдняй масай 250 г. Жывёл выпадковым чынам падзялілі на тры групы па 6 штук у кожнай і размясцілі ў асобных клетках. Пацукам на працягу 21 сут унутрыстраўнікава ўводзілі альбо фізіялагічны раствор хларыда натрыя (жывёлы першай кантрольнай групы), альбо прэднізалон, распушчаны ў фізрастворы, у разліку 5 мг/кг масы (другая група, «прэднізалонавая»), альбо прэднізалон у адзначанай дазіроўцы разам з вітамінам D у дозе 800 МА/кг масы (трэцяя група, «прэднізалонава-вітамінавая»).

Праз суткі пасля апошняга ўвядзення названых рэчываў пацукоў забівалі шляхам хуткай дэкапітацыі, ускрывалі брушную поласць, забіралі і ўзважвалі селязёнку. Затым з органа выразалі папярочны ўчастак шырынёй каля 5–6 мм (апошні бралі з сярэдняй часткі пярэдняй паловы органа). Яго фіксавалі на працягу 4 гадзін у сумесі 40 %-нага фармаліна, 96-градуснага этылавага спірту, канцэнтраванай воцатнай кіслаты (суадносіны вадкасцяў 9:3:1 адпаведна) і пасля прамыўкі праточнай вадой залівалі ў парафін. Рабілі папярочныя зрэзы органа таўшчынёй 4 мкм, з якіх рыхтавалі гісталагічныя прэпараты, афарбаваныя гематаксілінам і эзінам.

Са зробленых прэпаратаў селязёнкі выбіралі найбольш якасныя зрэзы (бралі па адным ад кожнага органа), якія фатаграфавалі з дапамогай камеры *Panasonic Color CCTV (WV-CP410/G)*, выкарыстоўваючы 4-кратнае павелічэнне. Прычым рабілі гэта так, каб кожнае чарговае поле зроку па прынцыпе чарапіцы перакрывала папярэдняе. З атрыманых фота з дапамогай кампутарнай праграмы *Paint* складалі поўнае электроннае фота кожнага абранага зрэза. На ім з дапамогай кампутарнай праграмы *Image-Pro Plus* у ручным рэжыме вымяралі: агульную плошчу папярочнага зрэза органа, абсалютную плошчу чырвонай і белай пульпы ў ім (у склад белай пульпы ўключалі лімфатычныя фалікулы, складзеныя ў сваю чаргу з гермінатыўнай, мантыйнай ды маргінальнай зон, і лімфоідныя муфты селязёначных артэрыёл (мал. 1)). З атрыманых даных дадаткова вылічвалі адносную долю белай пульпы на зрэзах селязёнкі.

Выкарыстоўваючы 20-кратнае павелічэнне, на плошчы чырвонай пульпы знаходзілі і падлічвалі ўсе мегакарыяцыты (улічвалі толькі тыя з іх, якія мелі не менш двух ядраў у цытаплазме), ацэньвалі колькасць эзінафілаў рознай ступені спеласці. Дадаткова на гэтых жа зрэзах фатаграфавалі ($\times 40$) па 20 выпадкова-паслядоўна знойдзеных зрэзаў мегакарыяцытаў з ядрамі і з дапамогай праграмы *Image-Pro Plus* вымяралі плошчы адзначаных клетак на зрэзах.



Мал. 1. Лімфатычны фалікул, лімфоідная муфта і чырвоная пульпа селязёнки пацука кантрольнай групы (складзена з асобных фота, $\times 20$). GC – гермінатыўны цэнтр лімфатычнага фалікула; PALS – лімфоідная муфта; MnZ – манцічная зона лімфатычнага фалікула; MgZ – маргінальная зона; RP – чырвоная пульпа; At – фалікулярная артэрыя

Fig. 1. Lymphoid follicle, periarteriolar lymphoid sheath and red pulp of the rat spleen in the control group (composed of separate images, $\times 20$). Abbreviations: GC – germinal center of a lymphatic follicle; PALS – periarteriolar lymphoid sheath; MnZ – mantle zone of a lymphatic follicle; MgZ – marginal zone; RP – red pulp; At – artery

Асобна фатаграфавалі ($\times 10$) усе гермінатыўныя зоны лімфатычных фалікулаў, вылічвалі абсалютную і адносную плошчы гермінатыўных зон.

Усе атрыманыя колькасныя даныя апрацоўвалі з дапамогай статыстычных праграм *Prism5* і *STATISTICA 10*. Вынікі падавалі як сярэдняе арыфметычнае \pm памылка сярэдняй ($M \pm m$). Для ацэнкі даставернасці адрозненняў паміж сярэднімі выкарыстоўвалі няпарны t -тэст, а таксама тэст Мана–Уітні. Даставернымі лічылі адрозненні пры $p < 0,05$.

Вынікі і іх абмеркаванне. Маса селязёнки была найбольшай у жывёл кантрольнай групы. У пацукоў «прэднізалонава-вітамінавай» групы яна аказалася ў 1,5 разы меншай, а ў жывёл чыста «прэднізалонавай» – у 2,2 разы меншай за кантрольную (гл. табл. 1).

Табліца 1. Змена масы селязёнки пацукоў пад уздзеяннем прэднізалона і прэднізалона ў камбінацыі з вітамінам D

Table 1. Changes of the spleen weight at the administration of prednisolone and prednisolone in combination with vitamin D

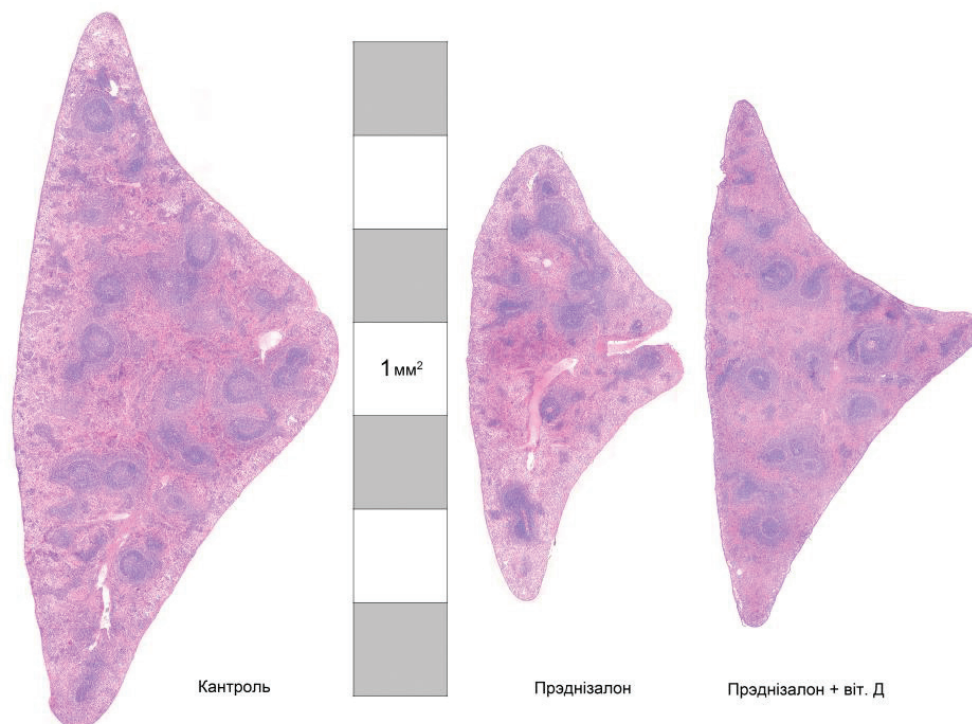
Група жывёл	Маса селязёнки, мг
1. Кантроль ($n = 6$)	$598 \pm 31,2$
2. Прэднізалон ($n = 5$)	$266 \pm 20,2^{**}$
3. Прэднізалон + вітамін D ($n = 6$)	$400 \pm 22,4^{**}$

З а ў в а г а. Тут і далей $^{**} - p < 0,05$ у параўнанні з кантрольнай групай адпаведна як па няпарным t -тэсце, так і па тэсце Мана–Уітні.

Як вядома, селязёнка млекакормячых можа істотна змяняць сваю масу і будову ў залежнасці ад стану арганізма (напрыклад, пры інфекцыі, фізічнай нагрузцы [14]). Рэакцыі селязёнки ў адказ на ўвядзенне аднаго і таго ж прэпарата ў розных індывідаў істотна адрозніваюцца. Аднак

у большасці млекакормячых і чалавека прызначэнне прэднізалона вядзе да памяншэння памераў селязёнку, тармозіць працэс праліферацыі лімфацытаў у ёй [15, 16], што і назіралася ў большасці жывёл ў нашым даследаванні.

Форма і памеры атрыманых папярочных зрэзаў селязёнку (мал. 2, табл. 2) добра ўзгадняюцца з масай органа, вымеранай непасрэдна пасля забой жывёл. Так, плошча папярочнага сячэння селязёнку была найбольшай у кантрольных жывёл, найменшай – у пацукоў «прэднізалонавай» групы (58 % ад кантроля), і мела прамежкавае значэнне ў «прэднізалонава-вітамінавай» групе.



Мал. 2. Тыповыя адрозненні паміж папярочнымі зрэзамі, узятымі ад селязёнак пацукоў кантрольнай, «прэднізалонавай» і «прэднізалонава-вітамінавай» груп

Fig. 2. Typical cross-sectional view of the rat spleen in the control, prednisolone and prednisolone plus vitamin D treated groups

У прэпаратах селязёнку, узятай ад жывёл усіх трох груп, мяжа паміж белай і чырвонай пульпай была дастаткова добра бачная, што дазволіла зрабіць адпаведныя вымярэнні. Высветлілася, што ў селязёнках жывёл «прэднізалонавай» групы некалькі памяншаўся абсалютны аб'ём як чырвонай, так і белай пульпы, пры гэтым адносна доля белай пульпы таксама некалькі памяншалася (але недаставерна (табл. 2)). Тут у якасці заўвагі варта адзначыць, што самы распаўсюджаны на сённяшні дзень метада марфаметрыі, заснаваны на вымярэнні адноснай плошчы, якую займае белая пульпа ў асобных палях зроку мікраскопа (гл., напрыклад, [17, 18]), не дазваляе выявіць некаторыя з адрозненняў.

На адзначаныя эфекты прэднізалона мала паўплывала дадатковае ўвядзенне вітаміна D – зрухі ў кірунку нормы мелі месца, але не былі даставернымі (табл. 2).

Табліца 2. Прынцыповыя змены структуры селязёнку пацукоў пад уздзеяннем вялікіх доз прэднізалона і вітаміна D

Table 2. Main changes in the rat spleen structure at the administration of a high dose of prednisolone and vitamin D

Група жывёл	Агульная плошча папярочнага зрэза органа, мм ²	Плошча чырвонай пульпы на зрэзе, мм ²	Плошча белай пульпы на зрэзе, мм ²	Адносная доля белай пульпы на зрэзе, %
1. Кантроль (n = 6)	13,2 ± 0,91	9,0 ± 0,45	4,2 ± 0,57	31,1 ± 2,32
2. Прэднізолон (n = 5)	7,7 ± 0,7**	5,6 ± 0,42**	2,1 ± 0,44**	26,4 ± 4,56
3. Прэднізолон + вітамін D (n = 6)	8,8 ± 0,42**	6,4 ± 0,36**	2,4 ± 0,27**	27,7 ± 2,3

Ва ўсіх жывёл кантрольнай групы ў складзе белаі пульпы селязёнкі прысутнічаюць развітыя лімфатычныя фалікулы, створаныя ў асноўным сукупнасцю лімфацытаў ды макрафагаў, лакалізаваных вакол дробных артэрыяў. Ва ўсіх фалікулах ёсць добра развітая мантыйная (з найбольшай шчыльнасцю размяшчэння клетак) і маргінальная зоны. У фалікулах вялікага памеру цэнтральнае месца часта займае дастаткова вялікая гермінатыўная зона (гермінатыўны цэнтр), як правіла, авальнай формы, дыяметрам да 250 мкм і больш. Тут знаходзяцца многія лімфацыты у стане мітатычнага дзялення і, як правіла, у яшчэ большай колькасці групы апаптатычных цельцаў (апошнія лёгка выяўляюцца па фрагментах ядзернага матэрыялу). Мітозы і апаптатычныя цельцы сустракаюцца таксама і ў мантыйнай ды маргінальнай зонах фалікулаў, але ў значна меншай колькасці. Гэта пацвярджае, што ў селязёнцы асноўным месцам праліферацыі лімфацытаў (у асноўным В-лімфацытаў [7]) і іх адбору з'яўляюцца гермінатыўныя цэнтры лімфатычных фалікулаў. Уражвае, што колькасць груп апаптатычных цельцаў тут пераважае над колькасцю фігур мітоза. Назіраемую з'яву масавага апаптозу лімфацытаў у гермінатыўных цэнтрах лімфатычных фалікулаў селязёнкі, прынамсі часткова, варта лічыць праявай механізму фарміравання імуналагічнай талерантнасці да аўтаантыгенаў [19].

У жывёл «прэднізалонавай» групы лімфатычныя фалікулы выглядалі менш развітымі, а гермінатыўныя цэнтры, калі іх атрымлівалася аб'ектыўна выявіць, мелі мінімальныя памеры (табл. 3). У жывёл «прэднізалонава-вітамінавай» групы названыя адзнакі мелі прамежковую ступень выразнасці, прычым былі настолькі набліжанымі да кантрольных значэнняў, што ад іх даставерна не адрозніваліся. Такім чынам, дадатковае ўвядзенне вітаміна D прывяло да істотнага зруху у бок нармальнага стану памераў гермінатыўных цэнтраў, даставерна паменшаных пад уплывам прэднізалона.

Т а б л і ц а 3. Памер гермінатыўнай зоны (ГЗ) лімфатычных фалікулаў селязёнкі пацукоў

Table 3. Sizes of the germinal centers in lymphatic follicles of rat's spleen

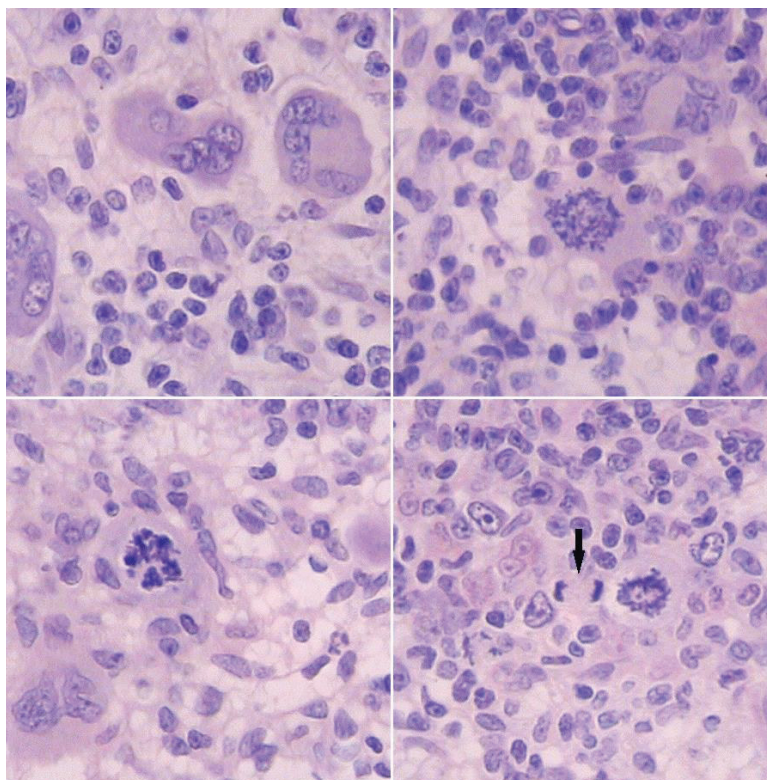
Група жывёл	Абсалютная плошча ГЗ на 1 зрэзе, мм ²	Плошча ГЗ адносна плошчы зрэза, %	Плошча ГЗ адносна плошчы белаі пульпы
1. Кантроль ($n = 6$)	0,075 ± 0,028	0,53 ± 0,18	1,71 ± 0,55
2. Прэднізалон ($n = 5$)	0,005 ± 0,003*	0,065 ± 0,04*	0,21 ± 0,13**
3. Прэднізалон + вітамін D ($n = 6$)	0,018 ± 0,01	0,226 ± 0,09	0,86 ± 0,32

З а ў в а г а. * – $p < 0,05$ у параўнанні з кантрольнай групай па няпарным t -тэсце.

З атрыманых намі даных вынікае, што такія колькасныя паказчыкі, як плошча папярочнага зрэза селязёнкі, плошча белаі пульпы на ім, памер гермінатыўных цэнтраў лімфатычных фалікулаў, а таксама праліферацыя ды апаптоз лімфацытаў у складзе апошніх безумоўна могуць служыць індыкатарамі выніковасці ўздзеяння тых ці іншых рэчываў на імунную функцыю арганізма млекакормячых.

Чырвоная пульпа селязёнкі насычана эрытрацытамі, якія, як правіла, знаходзяцца ў прасвеце вянозных сінусаў. Тут жа, а яшчэ больш паміж сінусамі, у складзе так званых селязёнкавых (пульпарных) цяжоў Більротэ, прысутнічаюць лімфацыты, манацыты-макрафагі, нейтрафільныя ды эзінафільныя лейкацыты. У складзе злучальна-тканкавых трабекул селязёнкі бачныя фібрабласты. У чырвонай пульпе таксама сустракаюцца мегакарыяцыты з гіганцкай па аб'ёме цытаплазмай і некалькімі ядрамі, якія размяшчаюцца альбо разам шчыльнай групай, альбо паўмесяцам, колам, васьмёркай (мал. 3). У складзе чырвонай пульпы дастаткова часта сустракаюцца клеткі ў стане мітатычнага дзялення, у тым ліку фігуры мітатычнага дзялення ядраў мегакарыяцытаў, якое адбываецца сінхронна (мал. 3).

У жывёл «прэднізалонавай» групы чырвоная пульпа ў цэлым выглядала менш насычанай клеткавымі элементамі ў параўнанні з кантролем, але ў ёй па-ранейшаму прысутнічала ўся іх разнастайнасць, характэрная для звычайнага стану селязёнкі. Што да мегакарыяцытаў, дык іх колькасць на адзінцы плошчы зрэза нават павялічылася (табл. 4).



Мал. 3. Мегакарыяцыты (на верхнім фота злева) і розныя фазы мітозу іх ядраў (на іншых фота) у селязёнцы пацука. На ніжнім фота справа стрэлкай паказана позняя анафаза мітозу звычайнай аднаядзернай клеткі. $\times 40$

Fig. 3. Megakaryocytes (top, on the left) and different mitosis stages (other pictures) in the rat spleen. The arrow (bottom, on the right) indicates the late anaphase of mitosis in the regular mononuclear cell. $\times 40$

Дадатковае ўвядзенне вітаміна D зрушвала асноўныя паказчыкі колькасці мегакарыяцытаў і мітозу іх ядраў у кірунку нормы, але ключавы з іх – шчыльнасць размяшчэння мегакарыяцытаў у чырвонай пульпе – не цалкам вяртала да кантрольных значэнняў (табл. 4).

Табліца 4. Шчыльнасць размяшчэння, памеры і мітозы ядраў мегакарыяцытаў (МКЦ)

Table 4. Amounts and sizes of megakaryocytes and the nuclei mitoses in megakaryocytes

Група жывёл	Колькасць МКЦ на 1 зрэзе	Колькасць МКЦ на 1 мм ² чырвонай пульпы	Сярэдняя плошча МКЦ на зрэзе, мкм ²	Знойдзена мітозаў МКЦ на 1 зрэзе	Мітатычны індэкс МКЦ, %
1. Кантроль ($n = 6$)	93,7 ± 14,2	10,4 ± 1,42	341 ± 8,1	0,67 ± 0,49	7,32 ± 5,8
2. Прэднізалон ($n = 5$)	154 ± 34,6	26,9 ± 4,9**	335 ± 9,0	1,8 ± 0,7	13,4 ± 4,0
3. Прэднізалон + вітамін D ($n = 6$)	122 ± 19,4	19,0 ± 2,9**	371 ± 10,3*	0,50 ± 0,2	5,86 ± 3,2

З а ў в а г а. * – $p < 0,05$ у параўнанні з кантрольнай групай па няпарным t -тэсце.

Як вядома, мегакарыяцыты развіваюцца з плюрыпатэнтнай гемапаэтычнай камлёвай клеткі, праходзячы адпаведныя этапы клеткавай камітацыі [20]. Адносна спелы мегакарыяцыт губляе здольнасць да дзялення, але здольны да рэплікацыі ДНК. Гэты працэс завяршаецца сінхронным мітатычным дзяленнем усіх ядраў мегакарыяцыта, але без наступнага цытакінэзу [21, 22]. У выніку мегакарыяцыт набывае канчатковую поліплоідную форму. Заўважана, што формула спадчыннага матэрыяла ў мегакарыяцытах чалавека можа павялічыцца да $64n$, у мышэй – да $256n$ [20].

Атрымліваецца, што павелічэнне шчыльнасці размяшчэння мегакарыяцытаў у чырвонай пульпе селязёнкі, асабліва выразнае ў жывёл «прэднізалонавай» групы, нельга тлумачыць уласнай праліферацыяй мегакарыяцытаў. Гэта можа быць абумоўлена альбо больш хуткім

утварэннем дадзеных клетак з адпаведных папярэдніц (пра што сведчыць тэндэнцыя да павышэння мітатычнага індэкса мегакарыяцытаў), альбо іх «канцэнтраваннем» у селязёнцы, якая стала меншай па аб'ёму (гл. табл. 1, 2), альбо першым і другім адначасова.

У чырвонай пульпе селязёнкі пацукоў адбываюцца праліферацыя і даспяванне эзінафілаў. Пра апошнія сведчаць як групавое знаходжанне эзінафілаў у чырвонай пульпе (групамі ад 2–3 штук да 2–3 і больш дзясяткаў), так і карціны мітатычнага дзялення іх няспелых форм. Колькасць эзінафілаў у чырвонай пульпе селязёнкі асабліва моцна вагалася ў жывёл «прэднізалонава-вітамінавай групы», але ў сярэднім у пацукоў усіх трох груп была блізкай.

Нарэшце, апошні заўважаны намі феномен, які варта ўзгадаць, гэта большае кровапаўненне чырвонай пульпы селязёнкі ў жывёл «прэднізалонава-вітамінавай» групы, чым у жывёл першых дзвюх груп.

У цэлым, праведзенае даследаванне сведчыць аб перспектыўнасці далейшага вывучэння магчымасці карэкцыі вітамінам D імуналагічнай ды гемапаэтычнай функцыі арганізма млекакормячых, змененых уздзеяннем глюкокартыкоідаў. У перспектыўных даследаваннях павінен быць выкарыстаны большы дыяпазон доз вітаміна D, а ключавыя працэсы прасочаны ў дынаміцы.

Такім чынам, палімарфізм у механізмах актыўнасці вітаіна D набывае новыя рысы і можа быць пашыраны не толькі на імунамадулюючыя, але і на гемапаэтычныя функцыі. Магчыма, гэта звязана з рэгулюючымі ўласцівасцямі гарманальнай формы вітаміна на сігнальны каскад PI3K/AKT/mTOR [23] ці адлюстроўвае агульныя эфекты кальцыферолаў на працэсы праліферацыі.

Заклучэнне. З пункту гледжання клеткава-біялагічных доследаў, селязёнка пацука з'яўляецца важным дадатковым органам імунагенэзу і гемапаэзу. Пад уздзеяннем прэднізалона ў абраным варыянце яго выкарыстання назіраецца скарачэнне агульных памераў селязёнкі, аб'ёмаў яе чырвонай і белай пульпы, памераў гермінатыўных цэнтраў лімфатычных фалікулаў органа. Аднак у чырвонай пульпе павялічваецца шчыльнасць размяшчэння мегакарыяцытаў. Вітамін D у выкарыстанай дозе зрушвае некаторыя з паказчыкаў морфафункцыянальнага стану селязёнкі ў бок нармалізацыі. Асабліва значна набліжаюцца да нормы памеры гермінатыўных цэнтраў лімфатычных фалікулаў органа, што сведчыць аб імунатропнасці гарманальнай формы кальцыферолаў.

Канфлікт інтарэсаў. Аўтары заяўляюць аб адсутнасці канфлікту інтарэсаў.

Падзякі. Праца выканана ў межах праекта 5.11 «Аптымізацыя біядаступнасці вітаміна D пры недастатковасці вітаміна і выкарыстанні розных кальцый-утрымліваючых субстанцый» Дзяржаўнай праграмы навуковых даследаванняў «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 State Scientific Research Program “Chemical technologies and materials”.

Спіс выкарыстаных крыніц

1. Godschalk, M. Glucocorticoids decrease vitamin D receptor number and gene expression in human osteosarcoma cells / M. Godschalk, J. R. Levy, R. W. Downs // *J. Bone Miner. Res.* – 1992. – Vol. 7, N 1. – P. 21–27. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650070105>
2. Hidalgo, A. A. Glucocorticoid regulation of the vitamin D receptor / A. A. Hidalgo, D. L. Trump, C. S. Johnson // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2010. – Vol. 121, N 1–2. – P. 372–375. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.03.081>
3. Dhawan, P. Novel regulation of 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase (24(OH)ase) transcription by glucocorticoids: cooperative effects of the glucocorticoid receptor, C/EBP beta, and the Vitamin D receptor in 24(OH)ase transcription / P. Dhawan, S. Christakos // *J. Cell Biochem.* – 2010. – Vol. 110, N 6. – P. 1314–1323. <https://doi.org/10.1002/jcb.22645>
4. Kassi, E. Vitamin D affects glucocorticoid action in target cells / E. Kassi, N. Nasiri-Ansari, A. G. Papavassiliou // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8, N 5. – P. 7220–7221. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13997>
5. Moore, K. L. *Clinically Oriented Anatomy* / K. L. Moore, A. F. Dalley. – 5th ed. – Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2005. – 1029 p.
6. Cumano, A. Ontogeny of the hematopoietic system / A. Cumano, I. Godin // *Annu. Rev. Immunol.* – 2007. – Vol. 25, N 1. – P. 745–785. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141538>
7. Steiniger, B. S. Human spleen microanatomy: why mice do not suffice / B. S. Steiniger // *Immunology.* – 2015. – Vol. 145, N 3. – P. 334–346. <https://doi.org/10.1111/imm.12469>

8. Effects of betel nut on cardiovascular risk factors in a rat model / M. P. Iqbal [et al.] // *BMC Cardiovasc. Disord.* – 2012. – Vol. 12. – Art. 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2261-12-94>
9. Marien, G. J. Splenic megakaryocytes and circulating platelets in pregnant rats / G. J. Marien, K. D. McFadden // *Am. J. Anat.* – 1970. – Vol. 128, N 2. – P. 225–233. <https://doi.org/10.1002/aja.1001280207>
10. Megakaryocyte function and dysfunction / A. Eldor [et al.]. // *Baillieres Clin. Haematol.* – 1989 – Vol. 2, N 3. – P. 543–568. [https://doi.org/10.1016/S0950-3536\(89\)80033-2](https://doi.org/10.1016/S0950-3536(89)80033-2)
11. Davoine, F. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity / F. Davoine, P. Lacy // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. – Art. 570. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00570>
12. Thermal injury increases the number of eosinophil progenitors in rat spleen and bone marrow / J. G. Noel [et al.] // *Inflammation.* – 2001. – Vol. 25, N 5. – P. 339–349.
13. Bro-Rasmussen, F. Effect of Cortisol on the Eosinophils in the Rat Spleen. Autoradiographic Studies / F. Bro-Rasmussen // *Scan. J. Haematol.* – 1973. – Vol. 11, N 1. – P. 59–70. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.1973.tb00096.x>
14. Shephard, R. J. Responses of the human spleen to exercise / R. J. Shephard // *J. Sports Sci.* – 2016. – Vol. 34, N 10. – P. 929–936. <https://doi.org/10.1080/02640414.2015.1078488>
15. The hematopoietic effects of prednisone therapy in four infants with osteopetrosis / J. D. Reeves [et al.] // *J. Pediatr.* – 1979. – Vol. 94, N 2. – P. 210–214. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(79\)80825-2](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(79)80825-2)
16. Prednisone treatment inhibits the differentiation of B lymphocytes into plasma cells in MRL/MpSlac-lpr mice / S.-X. Yan [et al.] // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2015. – Vol. 36, N 11. – P. 1367–1376. <https://doi.org/10.1038/aps.2015.76>
17. Бобрышева, И. В. Морфологическая реактивность селезенки крыс различных возрастных периодов при иммуностимуляции / И. В. Бобрышева // *Журн. клін. та експерим. мед. досліджень.* – 2013. – Т. 1, № 3. – С. 315–321.
18. Кащенко, С. А. Особенности гистологического строения белой пульпы селезенки крыс в разные периоды постнатального онтогенеза в условиях экспериментальной иммуносупрессии / С. А. Кащенко, И. В. Бобрышева // *Журн. Гродн. гос. мед. ун-та.* – 2014. – № 1. С. 51–54.
19. Hogquist, K. A. Central tolerance: learning self-control in the thymus / K. A. Hogquist, T. A. Baldwin, S. C. Jameson // *Nat. Rev. Immunol.* – 2005. – Vol. 5, N 10. – P. 772–782. <https://doi.org/10.1038/nri1707>
20. Gordon, M. S. Growth factors affecting human thrombocytopoiesis: potential agents for the treatment of thrombocytopenia / M. S. Gordon, R. Hoffman // *Blood.* – 1992. – Vol. 80, N 2. – P. 302–307.
21. Presence of a defect in karyokinesis during megakaryocyte endomitosis / L. Lordier [et al.] // *Cell Cycle.* – 2012. – Vol. 11, N 23. – P. 4385–4389. <https://doi.org/10.4161/cc.22712>
22. Anastasi, J. Some observations on the geometry of megakaryocyte mitotic figures: Buckyballs in the bone marrow / J. Anastasi // *Blood.* – 2011. – Vol. 118, N 24. – P. 6473–6474. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-374074>
23. Lisse, T. S. Vitamin D. A new player in the world of mTOR signaling / T. S. Lisse, M. Hewison // *Cell Cycle.* – 2011. – Vol. 10, N 12. – P. 1888–1889. <https://doi.org/10.4161/cc.10.12.15620>

References

1. 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. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650070105>
2. Hidalgo A. A., Trump D. L., Johnson C. S. Glucocorticoid regulation of the vitamin D receptor. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, vol. 121, no. 1–2, pp. 372–375. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2010.03.081>
3. Dhawan P., Christakos S. Novel regulation of 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase (24(OH)ase) transcription by glucocorticoids: cooperative effects of the glucocorticoid receptor, C/EBP beta, and the Vitamin D receptor in 24(OH)ase transcription. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2010, vol. 110, no. 6, pp. 1314–1323. <https://doi.org/10.1002/jcb.22645>
4. Kassi E., Nasiri-Ansari N., Papavassiliou A. G. Vitamin D affects glucocorticoid action in target cells. *Oncotarget*, 2017, vol. 8, no. 5, pp. 7220–7221. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13997>
5. Moore K. L., Dalle A. F. *Clinically Oriented Anatomy. 5th ed.* Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2005. 1029 p.
6. Cumano A., Godin I. Ontogeny of the hematopoietic system. *Annual Review of Immunology*, 2007, vol. 25, no. 1, pp. 745–785. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141538>
7. Steiniger B. S. Human spleen microanatomy: why mice do not suffice. *Immunology*, 2015, vol. 145, no. 3, pp. 334–346. <https://doi.org/10.1111/imm.12469>
8. Iqbal M. P., Mehboobali N., Haider G., Pervez S., Azam I. Effects of betel nut on cardiovascular risk factors in a rat model. *BMC Cardiovascular Disorders*, 2012, vol. 12, art. 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2261-12-94>
9. Marien G. J., McFadden K. D. Splenic megakaryocytes and circulating platelets in pregnant rats. *American Journal of Anatomy*, 1970, vol. 128, no. 2, pp. 225–233. <https://doi.org/10.1002/aja.1001280207>
10. Eldor A., Vlodavsky I., Deutsch V., Levine R. F. Megakaryocyte function and dysfunction. *Baillière's Clinical Haematology*, 1989, vol. 2, no. 3, pp. 543–568. [https://doi.org/10.1016/S0950-3536\(89\)80033-2](https://doi.org/10.1016/S0950-3536(89)80033-2)
11. Davoine F., Lacy P. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. *Frontiers in Immunology*, 2014, vol. 5, art. 570. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00570>
12. Noel J. G., Wells D. A., Guo X., Kong F., Lovell G. J., Ogle C. K. Thermal injury increases the number of eosinophil progenitors in rat spleen and bone marrow. *Inflammation*, 2001, vol. 25, no. 5, pp. 339–349.

13. Bro-Rasmussen F. Effect of cortisol on the eosinophils in the rat spleen. Autoradiographic studies. *Scandinavian Journal of Haematology*, 1973, vol. 11, no. 1, pp. 59–70. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.1973.tb00096.x>
14. Shephard R. J. Responses of the human spleen to exercise. *Journal of Sports Sciences*, 2016, vol. 34, no. 10, pp. 929–936. <https://doi.org/10.1080/02640414.2015.1078488>
15. Reeves J. D., Huffer W. E., August C. S., Hathaway W. E., Koerper M., Walters C. E. The hematopoietic effects of prednisone therapy in four infants with osteopetrosis. *Journal of Pediatrics*, 1979, vol. 94, no. 2, pp. 210–214. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(79\)80825-2](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(79)80825-2)
16. Yan S.-X., Deng X.-M., Wang Q.-T., Sun X.-J., Wei W. Prednisone treatment inhibits the differentiation of B lymphocytes into plasma cells in MRL/MpSlac-lpr mice. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2015, vol. 36, no. 11, pp. 1367–1376. <https://doi.org/10.1038/aps.2015.76>
17. Bobrysheva I. V. Morphological reactivity of rat spleen during different ages at immunostimulation. *Zhurnal klinichnikh ta eksperimental'nikh medichnikh doslidzhen' = Journal of Clinical and Experimental Medical Research*, 2013, vol. 1, no. 3, pp. 315–320 (in Russian).
18. Kashchenko S. A., Bobrysheva I. V. Features of histological structure in the white pulp of rat spleen during different periods of postnatal ontogenesis under experimental immunosuppression. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta = Journal of Grodno State Medical University*, 2014, no. 1, pp. 51–54 (in Russian).
19. Hogquist K. A., Baldwin T. A., Jameson S. C. Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nature Reviews Immunology*, 2005, vol. 5, no. 10, pp. 772–782. <https://doi.org/10.1038/nri1707>
20. Gordon M. S., Hoffman R. Growth factors affecting human thrombocytopoiesis: potential agents for the treatment of thrombocytopenia. *Blood*, 1992, vol. 80, no. 2, pp. 302–307.
21. Lordier L., Pan J., Naim V., Jalil A., Badirou I., Rameau P., Larghero J., Debili N., Rosselli F., Vainchenker W., Chang Y. Presence of a defect in karyokinesis during megakaryocyte endomitosis. *Cell Cycle*, 2012, vol. 11, no. 23, pp. 4385–4389. <https://doi.org/10.4161/cc.22712>
22. Anastasi J. Some observations on the geometry of megakaryocyte mitotic figures: Buckyballs in the bone marrow. *Blood*, 2011, vol. 118, no. 24, pp. 6473–6474. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-08-374074>
23. Lisse T. S., Hewison M. Vitamin D. A new player in the world of mTOR signaling. *Cell Cycle*, 2011, vol. 10, no. 12, pp. 1888–1889. <https://doi.org/10.4161/cc.10.12.15620>

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

Максимчик Юрий Зигмундович – науч. сотрудник. Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси (БЛК, 50, 230030, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: y.maksimchyk@ibiochemistry.by

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

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

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

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: y.maksimchyk@ibiochemistry.by

Valery A. Gurynovich – Ph. D. (Biol.), 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: val@bioch.basnet.by

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