

С. М. Марчишин, А. О. Савич, О. П. Андріішин

## Вплив збору антидіабетичного на гістологічний стан печінки щурів за умов моделювання цукрового діабету II типу

Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України»

**Ключові слова:** цукровий діабет, збір антидіабетичний, гістологічне дослідження, гепатоцити

Упродовж останніх років спостерігається значне зростання поширеності цукрового діабету (ЦД). В Україні станом на початок 2012 року число зареєстрованих хворих на ЦД перевищило 1,264 млн осіб. Кількість хворих на цукровий діабет у світі (366 млн осіб) неухильно зростає і за прогнозами в 2030 році може сягнути 552 млн [8].

ЦД становить серйозну медико-соціальну проблему в зв'язку з ураженням практично всіх органів і систем організму, зокрема, шлунково-кишкового тракту. Гіперглікемія, гіперліпідемія, порушення інших ланок обміну речовин нерозривно пов'язані з патологією печінки, що регулює вуглеводний та ліпідний обмін, деponує глікоген, бере участь у синтезі ліпопротеїнів дуже низької щільності. Порушення обміну речовин обов'язково асоціюється зі змінами функції печінки. ЦД II типу в більшості випадків пов'язаний з розвитком інсулінорезистентності (ІР), що призводить до надмірної маси тіла. Відомо, що ІР, окрім інших органів, розвивається й у печінці. Наслідком зниження чутливості гепатоцитів до інсуліну є зменшення гліюконеогенезу та збільшення синтезу жирних кислот та ліпопротеїнів. Розвивається жирова дистрофія (стеатоз) печінки, збільшуються її розміри, виникає ферментативна недостатність. Синтез ліпопротеїнів дуже низької щільності призводить до посилення ліпідемії та атерогенності крові, розвитку та прогресування ожиріння. При стеатозі та склеротичних змінах печінки відбувається формуван-

ня порталльної, а потім і системної гіпертензії. Зазначені ураження печінки пов'язані з усіма компонентами патогенезу ЦД II типу, і це обов'язково слід враховувати при проведенні терапії [3].

Саме тому фітотерапія може бути використана як допоміжний метод при лікуванні та профілактиці ЦД, оскільки проявляє системну дію на організм та впливає на всі ланки метаболізму, зокрема, функціональну активність печінки.

Лікарські рослини, що містяться в новому досліджуваному зборі антидіабетичному, зокрема, трава хвоща польового (*Equiseti arvensis herba*), квіти бузини (*Sambuci flores*), кореневища та корені оману (*Inulae rhizomata et radices*), трава звіробою (*Hyperici herba*), квітки липи (*Tiliae flores*), трава споришу (*Polygoni avicularis herba*), листя чорниці (*Myrtilli folium*), листя кропиви (*Urticae folia*) проявляють гепатопротекторну, протизапальну, гіполіпідемічну, гіпоглікемічну та антисклеротичну дії [4, 7] і тому можуть бути використані для усунення деструктивно-дистрофічних змін печінки.

**Мета дослідження** – вивчення впливу нового рослинного збору з антидіабетичною дією на гістологічний стан печінки щурів за умов інсулінорезистентності.

**Матеріали та методи.** Експериментальну інтолерантність до глюкози моделювали на 25 білих самцях щурів масою 200–250 г. Об'єктом дослідження була печінка тварин різних груп: після 2-тижневого підшкірного введення дексаметазону в дозі 0,125 мг/кг маси тіла тварин [6] – контрольна патологія; після лікувально-профілактичного внутрішньошлункового введення водного відвару збору антидіабетичного (1:10) у дозах 6 мл/кг, 9 мл/кг та

12 мл/кг одночасно з ін'єкціями дексаметазону; інтактних щурів – інтактний контроль. Виведення з експерименту всіх тварин було проведено на 15 день від початку дослідження. Усі дослідження проводили з дотриманням правил «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986 р.) [1].

Отриманий тканинний матеріал фіксували в 10 % розчині формаліну. Одну частину кожного зразка зневоднювали в спиртах зростаючої концентрації, заливали в парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином, проводили ШІК-реакцію для виявлення глікогену. Другу частину зразків різали на кріостатмікротомі та фарбували суданом IV для виявлення нейтральних жирів [2, 5].

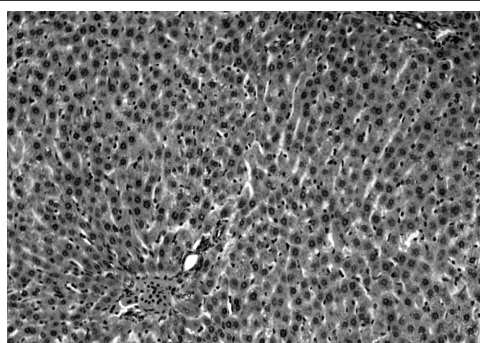
Мікропрепарати вивчали під світловим мікроскопом Granum та фотодokumentували цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Tour View з метою калібрування яскравості та чіткості зображення.

**Результати та їх обговорення.** Як показало світлооптичне дослідження, у інтактних щурів гістологічна картина органа мала типову для цих тварин будову. Часточковий малюнок тканини внаслідок майже повної відсутності сполучнотканинних прошарків не виразний. Межі часточок визначали за триадами. Печінкові часточки склалися з тяжів гепатоцитів, які мали чітку радіальну спрямованість. Зони триад (портальних трактів) вузькі. Гепатоцити в різних відділах печінкових часточок характерної форми та розміру, цитоплазма рівномірно профарбована, оптично щільна, не містила включень, видимих при світловій мікроскопії. Ядра гепатоцитів нормохромні, центрально розташовані, містили 1, рідше 2 ядерця. Кількість двоядерних гепатоцитів достатня. Стан епітелію жовчних протоків та ендотелію міжчасточкових кровоносних судин у триадах, а також ендотелій інших кровоносних судин у межах норми. Внутрішньочасточкові гемокапіляри помірно розши-

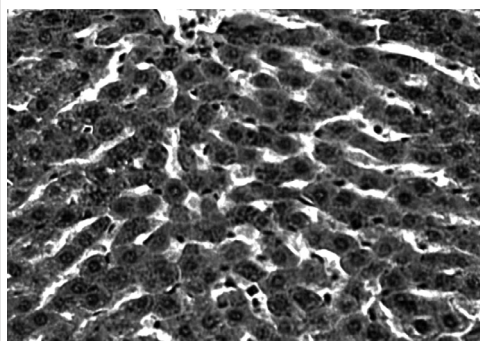
рені та кровонаповнені, містили звичайну кількість лімфоїдних клітин. Клітини Купфера без особливостей. Мітози у клітинах не спостерігалися (рис. 1).

ШІК-реакція показала, що цитоплазма гепатоцитів рівномірно та щільно заповнена дрібними гранулами глікогену (рис. 2), фарбування суданом не виявило накопичення жиру в клітинах (рис. 3).

Після 2-тижневого введення дексаметазону виявлено порушення радіальної балкової будови печінкової паренхіми. Гепатоцити щільно прилягали один до одного, що призводило до виразного звуження просвітів синусоїдальних капілярів. Практично всі гепатоцити мали ознаки дистрофії, місцями видно руйнування сусідніх клітинних мембран, дрібні ділянки гепатоцитолізу. У цитоплазмі клітин виявлені не чітко оконтуровані ділянки просвітлення цитоплазми та дрібні вакуолі. Ядра



*Рис. 1. Печінка інтактного щура. Нормальний стан печінкової паренхіми. Мікрофото: забарвлення гематоксилін-еозином.  $\times 200$*



*Рис. 2. Печінка інтактного щура. Рівень глікогену в гепатоцитах відповідає нормальному. Мікрофото: ШІК-реакція.  $\times 250$*

більшості гепатоцитів мономорфні, гетерохроматичні, ядерця не контуруються. Двойдерні клітини спостерігалися рідше порівняно з контрольною групою (рис. 4).

Фарбування суданом виявило накопичення жиру в цитоплазмі гепатоцитів. Краплі жиру різні за розміром, виявлені також у клітинах Купфера (рис. 5).

При постановці ШІК-реакції знайдено значне зменшення насиченості глікогеном цитоплазми клітин або відсутність його (рис. 6).

Уведення водного відвару збору антидіабетичного на тлі дексаметазону покращувало морфологічний стан печінки щурів. Виразність позитивного впливу відвару мала дозозалежний характер. Так, після введення відвару в дозі 6 мл/кг у тварин ще виявляли дифузну дистрофію гепатоцитів, але

виразність її була меншою за контрольну. Ознаки гепатолізису зменшені. Більш чіткою була структура ядер, у яких проглядалися ядерця. Виявлявся анізонуклеоз (коливання розміру ядер). Більш чіткою була й радіальна спрямованість печінкових балок, просвіти синусоїдних капілярів менше звужені й з невеликою кількістю формених елементів крові (рис. 7).

У цитоплазмі значної кількості гепатоцитів збільшено вміст глікогену (рис. 8). Зменшено накопичення жиру, краплі якого були переважно дрібні й не порушували цілісність клітин (рис. 9).

Після застосування водного відвару в дозі 9 мл/кг дистрофічні зміни гепатоцитів мали лише перипортальну вогнищеву локалізацію, при цьому частина гепатоцитів у цих зонах були достатньо морфологічно повноцінними. Візуально збільшувалася кількість двойдерних

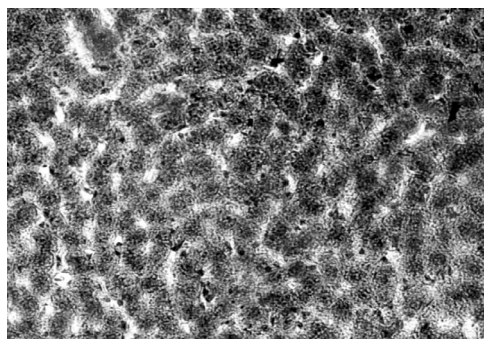


Рис. 3. Печінка інтактного щура. Відсутність жиру в цитоплазмі клітин. Мікрофото: забарвлення суданом IV.  $\times 250$

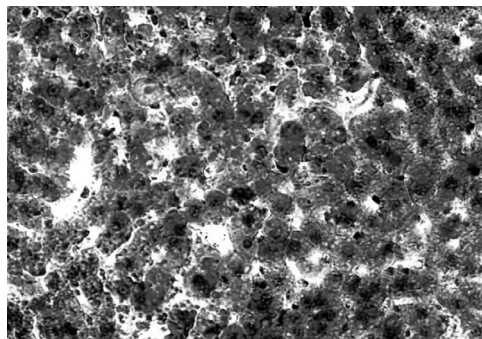


Рис. 5. Печінка щура після 2-тижневого введення дексаметазону. Накопичення жиру в цитоплазмі клітин. Мікрофото: забарвлення суданом IV.  $\times 250$

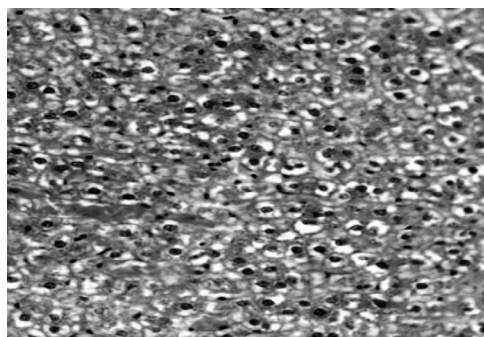


Рис. 4. Печінка щура після 2-тижневого введення дексаметазону. Дифузна дистрофія гепатоцитів, дисконфлексія печінкових балок, виразне звуження просвіту синусоїдних капілярів, дрібні ділянки гепатолізису. Мікрофото: забарвлення гематоксилін-еозином.  $\times 250$

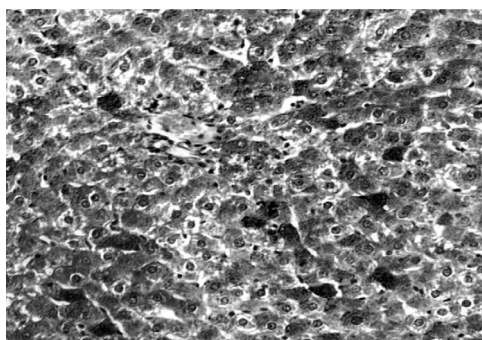


Рис. 6. Печінка щура після 2-тижневого введення дексаметазону. Зменшення вмісту або відсутність глікогену в більшості гепатоцитів. Мікрофото: ШІК-реакція.  $\times 200$



клітин (рис. 10). У 20 % щурів зміни печінкової паренхіми були дуже помірними.

Зниження вмісту глікогену відмічено лише в перипортальних гепатоцитах, інтенсивність ШИК-реакції інших зон часточок у різних щурів коливалася від дещо зниженої до нормальної (рис. 11).

Дрібнокрапельну жирову дистрофію від слабкої до помірної визначали також переважно в гепатоцитах, що локалізовані в перипортальних зонах. У клітинах Купфера жирові включення відсутні (рис. 12).

Відвар збору антидіабетичного в дозі 12 мл/кг проявляв найвиразніший гепатопротекторний ефект. У більшості

щурів балкова структура тканини помітно не порушена. Самі гепатоцити – нормального розміру. Ядра клітин – чітко структуровані, часто з крупними ядерцями, кількість яких іноді досягала 3–4 в одному ядрі. Ознаки гепатолізу практично відсутні, лише поодинокі гепатоцити або окремі дрібновогнищеві осередки клітин мали невиразні ознаки дистрофії (рис. 13). Пул двоядерних клітин та виразність анізонуклеозу практично були на рівні інтактного контролю. Виявлено гепатоцити в стані поділу (рис. 14). Усе це свідчило про активацію регенерації тканини. Відновлена здатність клітин до накопичення глікогену (рис. 15), жирові включення відсутні (рис. 16).

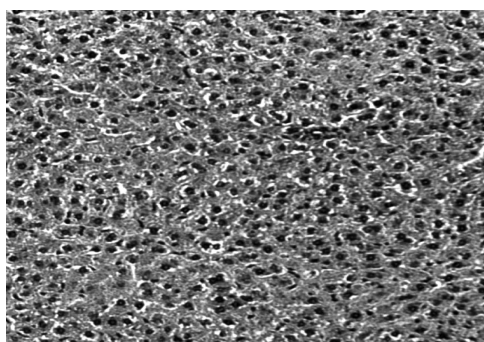


Рис. 7. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 6 мл/кг на тлі дексаметазону. Зменшення виразності дистрофії гепатоцитів, більш чітка радіальна спрямованість печінкових балок, збільшення просвіту синусоїдних капілярів. Мікрофото: забарвлення гематоксилін-еозином.  $\times 200$

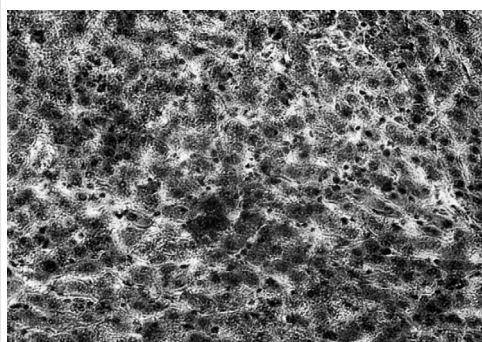


Рис. 9. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 6 мл/кг на тлі дексаметазону. Зменшення накопичення жиру в клітинах. Мікрофото: забарвлення суданом IV  $\times 200$

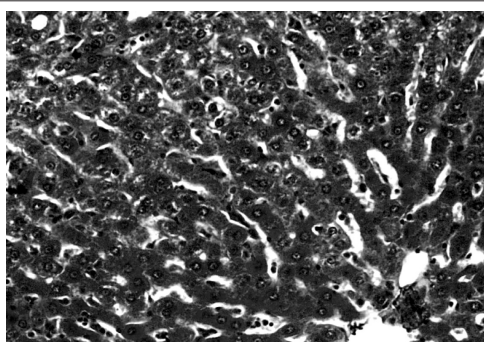


Рис. 8. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 6 мл/кг на тлі дексаметазону. Збільшення вмісту глікогену в цитоплазмі значної кількості гепатоцитів. Мікрофото: ШИК-реакція.  $\times 200$

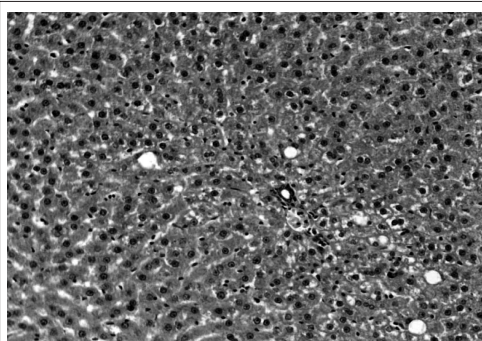


Рис. 10. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 9 мл/кг на тлі дексаметазону. Радіальна спрямованість печінкових балок збережена на більшості ділянок часточок, просвіт синусоїдних капілярів нормальний. Помірна дистрофія гепатоцитів перипортальної зони. Мікрофото: забарвлення гематоксилін-еозином.  $\times 200$

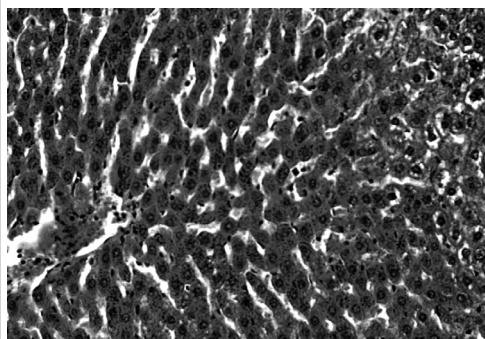


Рис. 11. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 9 мл/кг на тлі дексаметазону. Зменшення вмісту глікогену тільки в перипортальних гепатоцитах. Мікрофото: ШІК-реакція.  $\times 200$

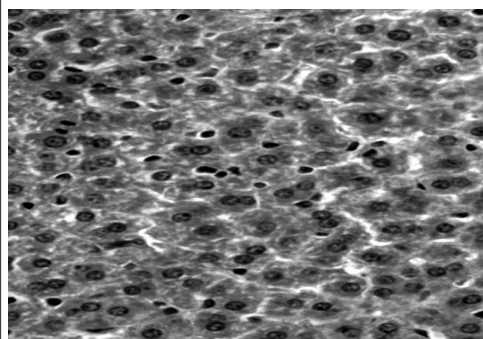


Рис. 14. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 12 мл/кг на тлі дексаметазону. Поява гепатоцитів у стані поділу. Мікрофото: забарвлення гематоксилін-еозином.  $\times 400$

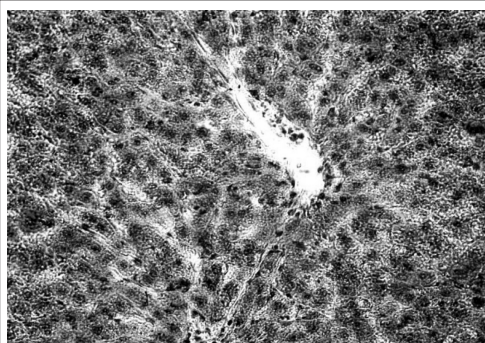


Рис. 12. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 9 мл/кг на тлі дексаметазону. Наявність дрібних жирових включень тільки в клітинах перипортальних зон. Мікрофото: забарвлення суданом IV  $\times 200$

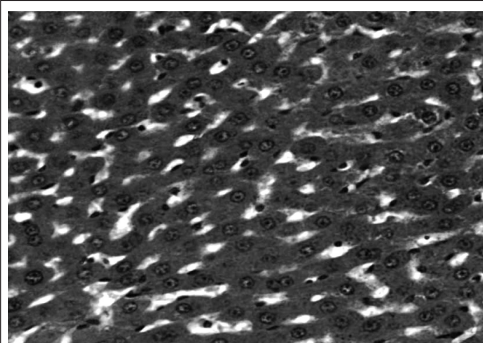


Рис. 15. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 12 мл/кг на тлі дексаметазону. Нормалізація вмісту глікогену в гепатоцитах. Мікрофото: ШІК-реакція.  $\times 200$

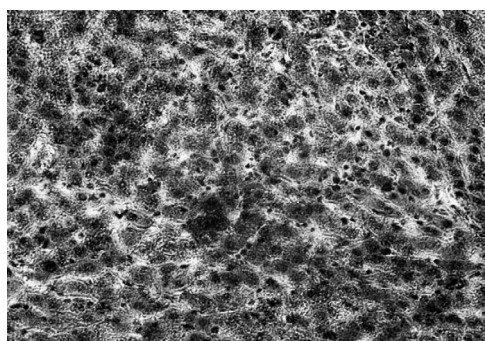


Рис. 13. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 12 мл/кг на тлі дексаметазону. Практично повне відновлення морфоструктури тканини, окремі гепатоцити з невиразними ознаками дистрофії. Мікрофото: забарвлення гематоксилін-еозином.  $\times 200$

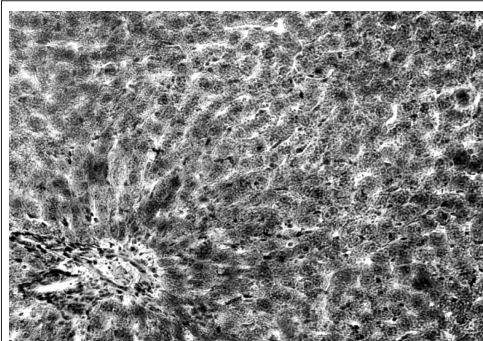


Рис. 16. Печінка щура за умов застосування водного відвару збору антидіабетичного в дозі 12 мл/кг на тлі дексаметазону. Відсутність жирових включень у гепатоцитах. Мікрофото: забарвлення суданом IV  $\times 200$



## Висновки

При введенні дексаметазону щурам заведеною вище схемою в печінці тварин виникають структурні зміни, які супроводжуються гіпоксією, порушеннями вуглеводного та ліпідного обміну, і є характерними для ЦД II типу.

Одночасне введення дексаметазону та водного відвару збору антидіабетичного в різних дозах послаблює або

попереджує деструктивно-дистрофічні зміни структурно-функціональної організації печінки щурів.

Найбільший вплив водний відвар збору антидіабетичного проявляє в дозі 12 мл/кг, виразно підвищує резистентність печінки щурів до дії агента, що викликає її пошкодження, та нормалізує метаболізм.

1. Директива Совета ЕС о сближении законов, постановлений и администрирование положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС) / Надлежащая производственная практика лекарственных средств; Под ред. Н. А. Ляпунова, В. А. Загория, В. П. Георгиевского, Е. П. Безуглой. – Киев : Морион, 1999. – С. 508–545.
2. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Москва : Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
3. Михайлов В. В. Основы патологической физиологии: Руководство для врачей / В. В. Михайлов, Б. М. Сагалович. – Москва : Медицина, 2001. – С. 121–122.
4. Носов А. М. Лекарственные растения / А. М. Носов. – Москва : ЭКСМО-Пресс, 2000. – 350 с.
5. Пирс Э. Гистохимия / Э. Пирс. – Москва : Иностран. Литература, 1962. – 967 с.
6. Полторак В. В. Експериментальне вивчення нових гіпоглікемічних засобів / В. В. Полторак, Н. І. Горбенко // Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації; за ред. О. В. Стефанова. – Київ, 2001. – С. 396–408.
7. Фитотерапия сахарного диабета / В. Н. Хворостинка, О. И. Москаленко, Л. В. Журавлева, В. Н. Савченко. – Харьков : Прапор, 1995. – 256 с.
8. Regional overviews [Електронний ресурс] // IDF Diabetes Atlas. – Режим доступу: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/the-global-burden>

**С. М. Марчишин, А. О. Савич, О. П. Андрієшин**

### **Влияние сбора антидиабетического на гистологический стан печенки щуров за умов моделювання цукрового діабету II типу**

*Мета дослідження* – вивчення впливу нового рослинного збору з антидіабетичною дією на гистологічний стан печінки щурів за умов інсулінорезистентності.

Виявлено, що введення водного відвару збору антидіабетичного на фоні модельованого діабету запобігає розладам мікроциркуляції та сприяє збереженню трабекулярної будови печінкових часточок. Ознаки гепатолізу та дистрофії гепатоцитів менше виражені, у клітинах краще зберігається глікоген, виявляється менше ліпідних крапель, розмір їхній зменшується. Явища анізонуклеозу менше виражені, ядра клітин краще контуровані, частіше зустрічаються клітини з двома ядрами, збільшується вміст еухроматину, на фоні якого краще збереженими виглядають ядерця.

Позитивний вплив водного відвару збору антидіабетичного на морфологічну структуру печінки має дозозалежний характер: при його введенні в дозі 6 мл/кг маси тіла тварин дистрофічні зміни зберігають дифузний характер, у дозі 9 мл/кг – виявляються на периферії часточок і виражені менше, у дозі 12 мл/кг – мають дрібновогнищевий характер і спостерігаються в перипортальних ділянках.

Таким чином, експериментально встановлено, що водний відвар збору антидіабетичного в дозі 12 мл/кг маси тіла тварин підвищує резистентність гепатоцитів до дії дексаметазону, попереджує та зменшує деструктивно-дистрофічні зміни структурних компонентів печінки щурів та нормалізує в них метаболічні процеси.

*Ключові слова:* цукровий діабет, збір антидіабетичний, гистологічне дослідження, гепатоцити

**С. М. Марчишин, А. А. Савич, А. П. Андрієшин**

### **Влияние сбора антидиабетического на гистологическое состояние печени крыс в условиях моделирования сахарного диабета II типа**

*Цель исследования* – изучение влияния нового растительного сбора с антидиабетическим действием на гистологическое состояние печени крыс в условиях инсулинорезистентности.

Вывявлено, что введение водного отвара сбора антидиабетического на фоне моделированного диабета предотвращает расстройства микроциркуляции и способствует сохранению трабекулярного строения печеночных долек. Признаки гепатоліза и дистрофии гепатоцитов меньше выражены, в клетках лучше сохраняется гликоген, меньше оказывается липидных капель, размер их умень-

---

шається. Явлення анізонуклеоза менше виражені, ядра кліток краще контуровані, частіше зустрічаються клітки з двома ядрами, збільшується вміст еухроматину, на фоні якого краще збереженими виглядають ядринки.

Позитивний вплив водного відвару збору антидіабетичного на морфологічну структуру печінки має дозовий характер: при його введенні в дозу 6 мл/кг маси тіла тварин дистрофічні зміни зберігають дифузний характер, в дозі 9 мл/кг – виявляються на периферії долек і виражені менше, в дозі 12 мл/кг – мають мелкоочаговий характер і спостерігаються в перипортальних зонах.

Таким чином, експериментально встановлено, що водний відвар збору антидіабетичного в дозі 12 мл/кг маси тіла тварин підвищує резистентність гепатоцитів до дії дексаметазону, запобігає і зменшує деструктивно-дистрофічні зміни структурних компонентів печінки крыс і нормалізує в них метаболічні процеси.

*Ключові слова:* цукровий діабет, збір антидіабетичний, гистологічне дослідження печінки, гепатоцити

**S. M. Marchyshyn, A. O. Savych, A. P. Andriyishyn**

### **An influence of antidiabetic collection on the histological state of rat liver in modeling of diabetes mellitus type II**

*The aim of research* was to study the impact of the new herbal collection with antidiabetic effect on the histological state of rat liver in the conditions of insulin resistance.

In experiment with model of diabetes it was revealed that introduction of water decoction of antidiabetic collection prevents disorders of microcirculation and preserves hepatic lobule trabecular structure. Signs of hepatolysis and dystrophy are less prominent, glycogen is better saved, less lipid drops are revealed and their size decreased. Anisonucleosis is less observed, nuclei of cells are better seen, more binucleated cells are found, euchromatin predominates and nucleoli are saved better.

Positive influence of water decoction of antidiabetic collection on rat liver morphological structure directly depends on dose: dystrophic changes are diffuse after its administration at a dose of 6 ml/kg, at a dose of 9 ml/kg, – they are less prominent and were revealed at the periphery of lobules, at a dose of 12 ml/kg, small nodes of changed structures are seen around portal tracts.

So, in experiment it was revealed that the water decoction of antidiabetic collection at a dose of 12 ml/kg, increases resistance of hepatocytes to the action of dexamethasone, prevents and reduces the destructive-dystrophic changes of structural components of rat liver and normalizes metabolic processes in organ.

*Key words:* diabetes mellitus, antidiabetic collection, histological research, hepatocytes

---

*Надійшла: 22 лютого 2016 р.*

**Контактна особа:** Марчишин Світлана Михайлівна, професор, доктор фармацевтичних наук, кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», буд. 1, майдан Волі, м. Тернопіль, 46001. Тел.: + 38 0 67 936 16 70. Електронна пошта: [svitlanafarm@ukr.net](mailto:svitlanafarm@ukr.net)