

## ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЗБОРУ АНТИДІАБЕТИЧНОГО НА ТКАНИНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ ЩУРІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ, ІНДУКОВАНИМ ВВЕДЕННЯМ ДЕКСАМЕТАЗОНУ

**Ключові слова:** збір антидіабетичний, цукровий діабет, гістологічне дослідження, β-клітини підшлункової залози

Цукровий діабет, за визначенням ВООЗ, це стан хронічної гіперглікемії, зумовлений порушенням синтезу або дії інсуліну. Основним патогенетичним механізмом розвитку цукрового діабету є інсулінорезистентність та гетерогенна деструкція інсулярного апарату [1]. Це ендокринне захворювання визнане неінфекційною епідемією ХХІ ст., адже число хворих на цукровий діабет щороку стрімко зростає та набирає загрозливого характеру. Найбільш негативними наслідками розвитку цукрового діабету є рання інвалідизація та велика смертність серед хворих цієї групи [2]. Тому доцільним є пошук нових ефективних лікарських засобів для профілактики та лікування цукрового діабету. В цьому аспекті перспективним напрямом є застосування зборів лікарських рослин, які можуть зменшити гіперглікемію, здійснити корекцію у системах перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту, виявити панкреато-захисні властивості.

**Метою** нашої роботи було дослідження протекторної дії збору антидіабетичного на підшлункову залозу щурів із цукровим діабетом 2 типу, спричиненим введенням дексаметазону.

### Матеріали та методи дослідження

Експериментальний цукровий діабет спричинювали підшкірними ін'єкціями розчину дексаметазону (KRKA, Словенія) у дозі 0,125 мг/кг упродовж 15 діб [3]. Дослідження виконували на білих статевозрілих щурах-самцях лінії Вістар масою 200–220 г. Відвар збору антидіабетичного готували у співвідношенні 1:10 і вводили один раз на день внутрішньошлунково в дозах 6, 9 та 12 мл/кг щодня протягом 15 діб одночасно з ін'єкціями дексаметазону. Контрольні тварини одержували воду в аналогічному режимі.

Для гістологічного дослідження брали хвостову частину підшлункової залози, яка розміщена у товщі шлунково-селезінкової зв'язки. Тканинний матеріал фіксували в 10%-му розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Готували зрізи товщиною 5–7 мкм, які фарбували гематоксиліном і еозином за методом Ван-Гізона [4].

На зрізах підшлункової залози визначали оптичну щільність панкреатичних острівців (загальну кількість їх у мікропрепараті), острівцевий профіль (кількість β-клітин у острівці), функціональний індекс (ФІ – відношення β-клітин до α-клітин) [5]. За показником острівцевого профілю розподіляли острівці на дрібні (містили до 20 β-клітин), середні (21–60 β-клітин) та великі (> 61 β-клітини), ви-

значали відсоткову частку кожної категорії панкреатичних острівців [6]. За допомогою програми Tourcam Granum вимірювали периметр панкреатичних острівців (мкм).

Перегляд мікропрепаратів виконували під світловим мікроскопом Granum (Німеччина), фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми Tour View.

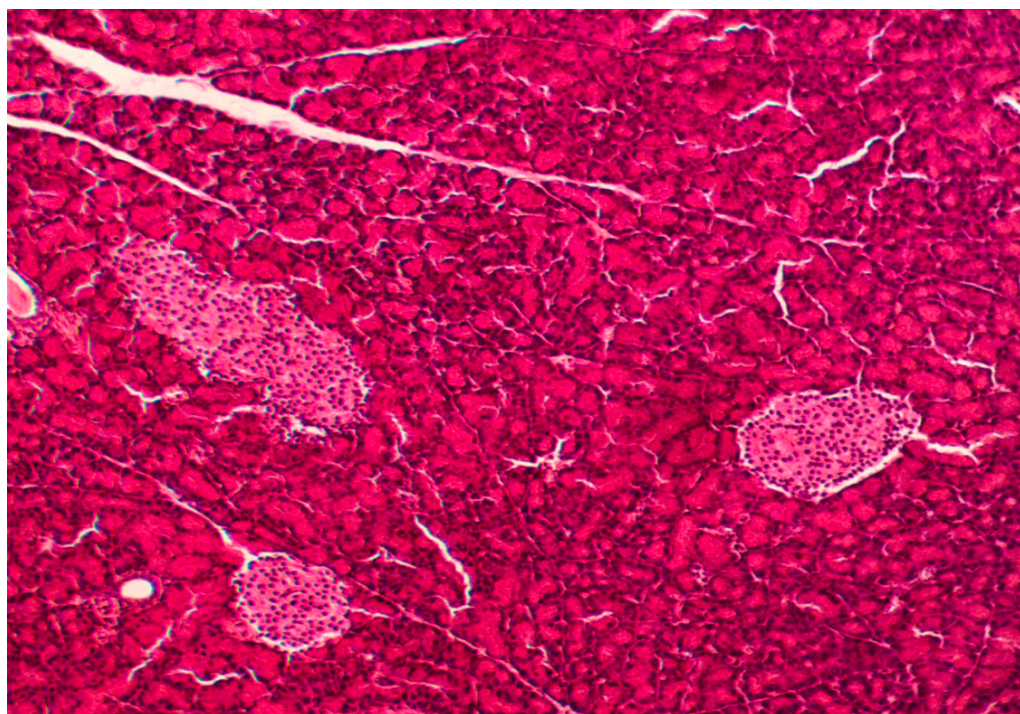
Дослідження здійснювали відповідно до правил Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою (м. Страсбург, 1986), і Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», прийнятого 21 лютого 2006 р. [7].

### **Результати дослідження та обговорення**

Було проведено гістологічне дослідження інсулярного апарату у щурів, яким вводили дексаметазон з метою індукції цукрового діабету 2 типу, оскільки надмірні дози глюкокортикостероїдів призводять до порушень секреторної функції панкреатичних  $\beta$ -клітин, розвитку інсулінорезистентності та погіршення толерантності до вуглеводів [8].

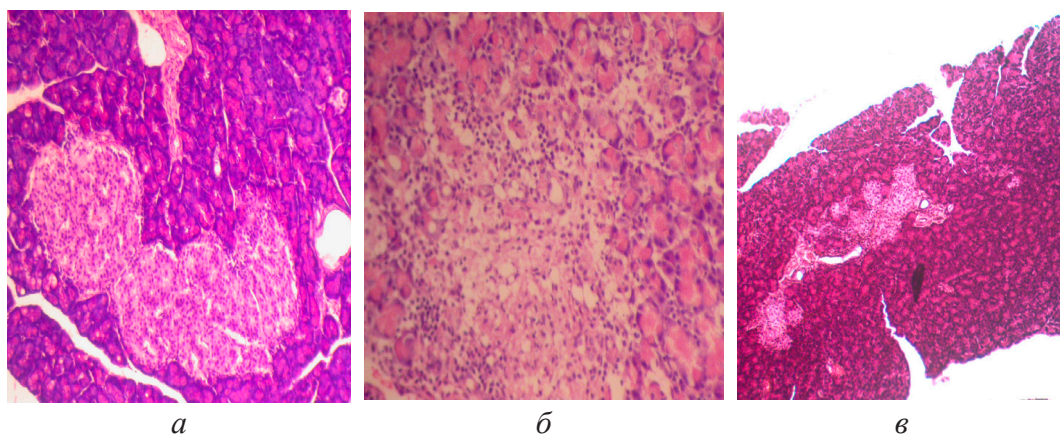
У групі інтактного контролю на мікропрепаратах було видно залозисту паренхіму, що складалася з помірних за розміром часточок та системи міжчасточкових та внутрішньочасточкових вивідних протоків; артерії та вени були різних калібрів. Сполучнотканинні перетинки між часточками були виражені помірно. У часточках розподіл тканини на екзо- та ендокринну складові був чітким. Екзокринна паренхіма залози була подана кінцевими секреторними відділами залоз – ацинусами, які розташовані з високою щільністю, складалася з одного шару залозистих клітин, для яких був характерним розподіл на дві по різному профарбовані зони: базальну базофільну зону, де містилося округле, щільне ядро, та еозинофільну центральну зону, що містила дрібні зерна зимогену. Співвідношення зон коливалося у межах 1:1,5–1:2,5. Просвіт ацинусів був невеликим. Епітелій, просвіт і перидуктальна строма більшості протоків були звичайними. Ендокринна складова залози подана панкреатичними острівцями (ПО), об'ємна щільність яких становила  $22,2 \pm 0,66$  одиниць. Більшість острівців була чітко відмежована від оточуючої екзокринної паренхіми, мала округлу чи овальну форму. Основну масу клітин (до 80–90%) у острівцях складали  $\beta$ -клітини з достатньо великими світлими ядрами, які доволі щільно та рівномірно заповнювали всю центральну зону. Між тяжами клітин у ряді острівців видно поширені синусоїдальні капіляри. По периферії острівців ланцюжком розташовані  $\alpha$ -клітини (рис. 1). Такий характер розташування  $\alpha$ - і  $\beta$ -клітин в острівці є типовим для цього виду тварин [9]. Основна маса острівців містила 21–60  $\beta$ -клітин – середні острівці ( $62,3 \pm 1,87\%$ ). На долю дрібних острівців (5–20  $\beta$ -клітин), приходилося  $22,4 \pm 0,81\%$ , а великих ( $> 60$   $\beta$ -клітин) –  $15,36 \pm 1,63\%$  (таблиця). Функціональний індекс (ФІ) становив  $5,0 \pm 0,07$  (таблиця). Периметр дрібних ПО коливався у межах 250–490 мкм, середніх – 550–1 200 мкм, великих – від 1 400 до 2 550 мкм.

Після введення дексаметазону кількість ПО у мікропрепаратах залозистої тканини щурів вірогідно зменшилася відносно інтактного контролю на 27,93%. Серед острівців, що залишилися, переважали дрібні острівці –  $43,1 \pm 2,29\%$  від загальної кількості острівців у препараті, що у 1,92 раза перевищувало показник інтактного контролю. Доля середніх острівців зменшилась у 1,92 раза. Щодо частки великих ПО, то вона, навпаки, збільшилась у 1,64 раза (таблиця), серед них спостерігали



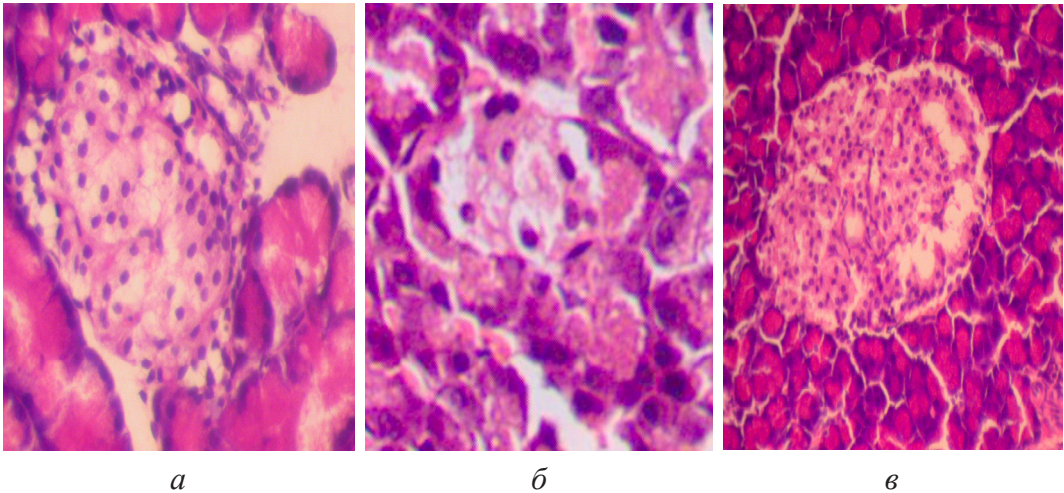
**Рис. 1. Фрагмент підшлункової залози інтактного щура:**  
 нормальний стан ацинусів (А) та панкреатичних острівців (ПО). Мікрофото: забарвлення гематоксилін–еозином, × 100

надвеликі острівці. Зазнав змін і периметр ПО. Як правило, він зменшився, незважаючи на острівцевий профіль. Так, у дрібних острівцях периметр коливався у межах 80–380 мкм, у середніх – 500–950 мкм, а великі острівці займали від 1 400 до 3 200 мкм. Часто острівці були нечітко відмежовані від оточуючої ацинарної тканини. Нерідко змінювалася форма острівців (рис. 2).



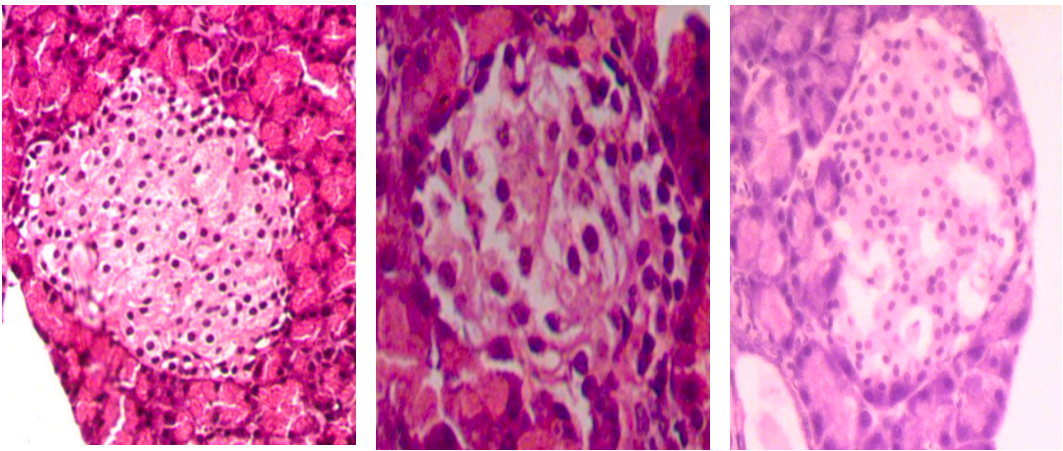
**Рис. 2. Фрагмент підшлункової залози щура після введення дексаметазону:**  
 а – надвеликий панкреатичний острівець; б – нечіткість межі між панкреатичним острівцем та ацинарною паренхімою, проліферація β-клітин;  
 в – деформація панкреатичного острівця. Мікрофото: забарвлення гематоксилін–еозином, × 200

У різних ПО спостерігали варіабельну за виразністю спустошеність центральної зони, вакуолізацію цитоплазми  $\beta$ -клітин. Частина  $\beta$ -клітин мала гіпертрофічні ядра, а у деяких – ядра були пикнотичні або збіднені хроматином. У низці острівців окрім  $\beta$ -клітин видно проліферати клітин у місцях типової локалізації  $\alpha$ -клітин. У цілій низці острівців видно залишки клітинного детриту, який розсмоктувався, створюючи пустоти (рис. 3). Водночас, мали місце і мало змінені панкреатичні острівці. У середньому по групі ФІ інкреторного апарату вірогідно знижено до  $2,8 \pm 0,14$ , що порівняно з інтактним контролем у 1,8 раза менше (таблиця). В ацинарній тканині грубих помітних змін не виявлено. В ацинозних клітинах розмір зони цитоплазми, яка містила зерна зимогену, та базофільно профарбованої зони візуально співпадав з таким у інтактного контролю. Ядра клітин часто були гіпертрофовані та гіперхромні. Вивідні протоки усіх калібрів були поширені, достатньо чітко простежена проліферація протокового епітелію. Вищенадана мікроскопічна картина є морфологічним відображенням функціональної виснаженості інсулоцитів.



**Рис. 3. Фрагмент підшлункової залози щура після введення дексаметазону:**  
*а* – вакуолізація панкреатичних  $\beta$ -клітин,  $\times 250$ ; *б* – спустошення острівця (овал),  
 $\times 400$ ; *в* – пустоти із залишками клітинного детриту в острівці,  $\times 200$ . Мікрофото:  
забарвлення гематоксилін–еозином

У щурів, які лікувально-профілактично отримували відвар антидіабетичного збору у дозі 6 мл/кг, атрофічні вияви в інсулярному апараті зменшені. Оптична щільність ПО достовірно зросла на 13,75% порівняно зі щурами групи контрольної патології. При цьому, вміст дрібних острівців зменшився у 1,27 раза, а середніх збільшився у 1,45 раза. Частка великих ПО хоча і зменшилася відносно контрольної патології у 1,33 раза, але цей показник не мав достовірного значення (таблиця). Периметр острівців більше відповідав прийнятим за нормальні (інтактний контроль) показники: 250–400 мкм – дрібні, 500–1 100 мкм – середні, 1 400–3 000 мкм – великі. Поліпшено і морфологічний стан цілої низки острівців: менш виразна спустошеність центральної частини острівців, вакуолізація клітин.  $\beta$ -Клітини мали збільшені, нормальні за розміром ядра. Була помічена більш виразно чітка відмежованість більшості острівців від оточуючої ацинарної тканини, значно менше виражена деформація острівців. У меншому ступеню визначалася проліферація  $\alpha$ -клітин. Водночас, ще видно було нечисленні ПО, в яких мали місце пустоти із залишками клітинного детриту (рис. 4). У цілому, ФІ був достовірно збільшеним на 18,11% відносно контрольної патології (таблиця).



*a*

*б*

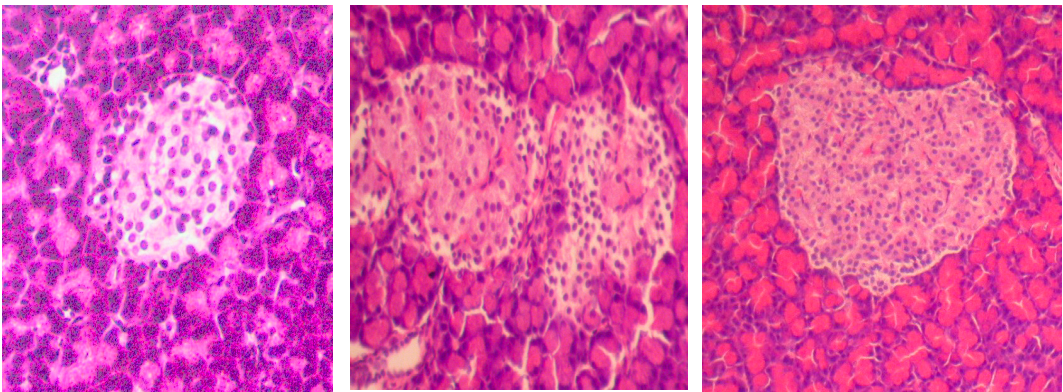
*в*

**Рис. 4. Фрагмент підшлункової залози щура після введення відвару антидіабетичного збору у дозі 6 мл/кг на тлі дексаметазону:**

менша виразність: *a* – вакуолізації панкреатичних  $\beta$ -клітин,  $\times 250$ ;

*б* – спустошення  $\beta$ -клітин та проліферації (стрілка)  $\alpha$ -клітин,  $\times 400$ ; *в* – пустоти із залишками клітинного детриту в острівці,  $\times 250$ . Мікрофото: забарвлення гематоксилін–еозином

Після введення відвару антидіабетичного збору у дозі 9 мл/кг оптична щільність острівців достовірно зросла порівняно з контрольною патологією на 16,25%. У 1,48 раза зменшилася частка дрібних ПО, у 1,56 раза збільшилась частка середніх ПО і у 1,23 раза менше стало великих острівців. Периметр ПО здебільшого не виходив за межі прийнятої норми (230–450 мкм, 500–1 200 мкм, 1 400–2 900 мкм). Гістологічний стан значної частини острівців був кращим, ніж у щурів із групи контрольної патології і трохи кращим, ніж у разі введення дози 6 мл/кг: ядра  $\beta$ -клітин були без ознак гіпертрофії, пікнозу, кількість їх в острівцях була зменшена не дуже виразно, гіперплазія  $\alpha$ -клітин була невиразною. Форма ПО була типовою. ФІ ендокринного апарату щурів цієї групи становив 3,5, що на 25,36% перевищувало показник щурів групи контрольної патології (таблиця). Стан ацинарної тканини був незміненим.



*a*

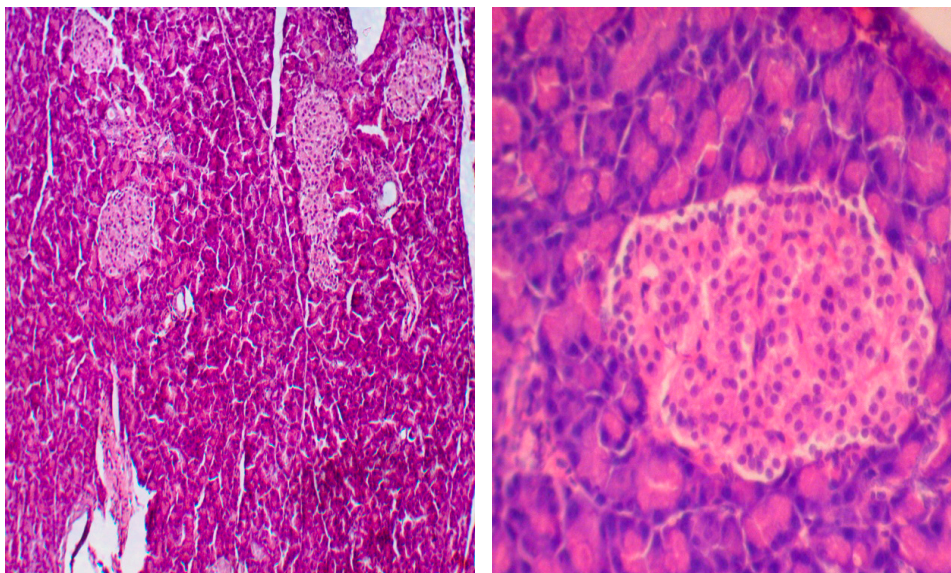
*б*

*в*

**Рис. 5. Фрагмент підшлункової залози щура після введення відвару антидіабетичного збору у дозі 9 мл/кг на тлі дексаметазону:**

*a* – менша виразність вакуолізації  $\beta$ -клітин,  $\times 250$ ; *б* – помірне спустошення  $\beta$ -клітин,  $\times 250$ ; *в* – вогнищева проліферація  $\alpha$ -клітин у нормальному острівці,  $\times 200$ . Мікрофото: забарвлення гематоксилін–еозином

Збільшення дози антидіабетичного збору до 12 мл/кг достатньо помітно поліпшувало як гістологічні, так і морфометричні показники стану інкреторного апарату щурів відносно контрольної патології і груп тварин, яким вводили інші дози антидіабетичного збору, хоча і не досягало рівня інтактного контролю (за винятком показника оптичної щільності) (таблиця). Периметр острівців також, в основному, був у межах норми. Мікроскопічно стан переважної більшості ПО і панкреатичних  $\beta$ -клітин відповідав нормальному, ФІ також наближався до інтактних значень (таблиця). Візуально лише невелика частка острівців мала вищеописані порушення (рис. 6).



*a*

*б*

**Рис. 6. Фрагмент підшлункової залози щура після введення відвару антидіабетичного збору у дозі 12 мл/кг на тлі дексаметазону:**

*a* – відновлення оптичної щільності ПО,  $\times 100$ ; *б* – нормальний морфологічний стан острівця,  $\times 200$ . Мікрофото: забарвлення гематоксилін–еозин

### **Висновки**

1. Одержані результати гістологічного дослідження підшлункової залози дають підстави вважати, що двотижневе підшкірне введення дексаметазону у дозі 0,125 мг/кг призводить до неповноцінності інсулярного апарату, яка супроводжується розвитком у панкреатичних острівцях загальних морфологічних ознак, характерних для цукрового діабету 2 типу на ранніх стадіях: незначні деструктивно-дистрофічні зміни  $\beta$ -клітин, проліферації  $\alpha$ -клітин, зниження кількості самих острівців (оптичної щільності), зміна у відсотковому розподілі острівців за розміром (вмісту  $\beta$ -клітин) у бік зменшення.

2. Відвар антидіабетичного збору у дозах 6 мл/кг, 9 мл/кг та 12 мл/кг у разі введення його одночасно з дексаметазоном зменшує діабетогенну дію останнього. В інсулярній тканині зростає оптична щільність панкреатичних острівців, певною мірою відновлюється нормальний відсотковий розподіл острівців за розміром (вмістом  $\beta$ -клітин), значно зменшуються деструктивно-дистрофічні вияви з боку інсулярного апарату, візуалізується збільшення гістологічно більш повноцінних інсуліноцитів.

3. Найбільш виражену антидіабетичну дію досліджуваний рослинний збір виявляє у дозі 9 та 12 мл/кг.

Морфометричні показники інкреторного апарату підшлункової залози щурів із дексаметозоніндукованим діабетом у разі застосування антидіабетичного збору ( $n = 5$ )

Група тварин	Оптична щільність (загальна кількість панкреатичних острівців у мікропрепараті) ( $M \pm m$ )	Острівцевий профіль – розподіл панкреатичних острівців за вмістом $\beta$ -клітин, ( $min, max$ )						Функціональний індекс ( $\beta/\alpha$ клітини)
		маленькі		середні		великі		
		кількість	%	кількість	%	кількість	%	
Інтактний контроль	22,2 ± 0,66 **, #, ##	5,0 ± 0,32 ##	22,4 ± 0,81 *, #, ##	13,8 ± 0,37 **, #, ##	62,3 ± 1,87 **, #, ##	3,4 ± 0,4	15,3 ± 1,63 *, ##	5,0 ± 0,07 *, **, #, ##
Контрольна патологія	16,0 ± 0,45 *, **, #	6,8 ± 0,37 *, **	43,1 ± 2,29 *, **, #	5,2 ± 0,37 *, **, #	32,4 ± 1,96 *, **, #	4,0 ± 0,45	25,1 ± 2,90	2,8 ± 0,14 *, **, #
Антидіабетичний збір, 6 мл/кг	18,2 ± 0,58 *	6,2 ± 0,49	34,0 ± 2,05 *	8,6 ± 0,51 *	47,2 ± 1,98 *	3,4 ± 0,24	18,8 ± 1,72	3,3 ± 0,10 *
Антидіабетичний збір, 9 мл/кг	18,6 ± 0,40 *	5,4 ± 0,24	28,8 ± 1,35 *	9,4 ± 0,24 *	50,6 ± 1,34 *	3,8 ± 0,37	20,4 ± 1,82	3,5 ± 0,03 *
Антидіабетичний збір, 12 мл/кг	21,8 ± 0,58	4,8 ± 0,37	21,9 ± 1,22	12,8 ± 0,37	58,8 ± 1,72	4,2 ± 0,20	19,4 ± 0,76	4,6 ± 0,13

П р и м і т к а. \* – Статистично значущі відмінності щодо групи 12 мл/кг, критерій Манна-Уїтні; \*\* – статистично значущі відмінності щодо групи 9 мл/кг, критерій Манна-Уїтні; # – статистично значущі відмінності щодо групи 6 мл/кг, критерій Манна-Уїтні; ## – статистично значущі відмінності щодо групи контрольної патології, критерій Манна-Уїтні.

### Список використаної літератури

1. Belcaro G., Cesarone M. R., Errichi B. M. et al. Improvement of diabetic microangiopathy with Rucynogenol: a prospective, controlled study // *Angiology*. – 2006. – P. 431–436.
2. Juris J., Meier I., Michael Nauck A. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) in biology and pathology // *Diabetes Metab. Res. Rev.* – 2015. – P. 117.
3. Стефанова О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
4. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
5. Торопцев И. В., Ещенко В. А. Экспериментальный дитизионовый диабет. – Томск: ТГУ, 1975. – 135 с.
6. Горбенко Н. І. Патогенетичне обґрунтування ефективності похідного янтарної кислоти – фен-сукцинала в терапії цукрового діабету та його судинних ускладнень (експериментальне дослідження). Автореф. дис. ... д-ра біол. наук. – Харків, 2004. – 36 с.
7. Ляпунов Н. А., Загорий В. А., Георгиевский В. П., Безуглая Е. П. 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). – К.: Морион, 1999. – С. 508–545.
8. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice recommendations for Diabetes and Chronic Kidney Disease // *AJKD*. – 2007. – N 369. – P. 201–207.
9. Хэм А., Кормак Д. Гистология: Пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – Т. 5. – 296 с.

Надійшла до редакції 11 листопада 2016 року.

А. А. Савич<sup>1</sup>, С. М. Марчишин<sup>1</sup>, Н. М. Островский<sup>1</sup>, Ю. Б. Ларьяновская<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины»

<sup>2</sup> Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СБОРА АНТИДИАБЕТИЧЕСКОГО НА ТКАНИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ИНДУЦИРОВАННЫМ ВВЕДЕНИЕМ ДЕКСАМЕТАЗОНА

**Ключевые слова:** сбор антидиабетический, сахарный диабет, гистологическое исследование,  $\beta$ -клетки поджелудочной железы

### А Н Н О Т А Ц И Я

Сахарный диабет является глобальной проблемой современности, ведь наблюдается ежегодное резкое увеличение количества больных в мире. Опасность представляют тяжелые осложнения сахарного диабета, которые приводят к частой инвалидизации больных и высокой смертности.

Целью нашей работы было исследование протекторного действия сбора антидиабетического на поджелудочную железу крыс с сахарным диабетом 2 типа, индуцированного введением дексаметазона.

Материалами исследования были срезы тканей поджелудочных желез крыс с экспериментальным сахарным диабетом, которые в лечебно-профилактическом режиме получали отвар (1:10) сбора антидиабетического (*Equiseti arvensis herba, Sambuci flores, Inulae rhizomata et radices, Hyperici herba, Tiliae flores, Polygoni avicularis herba, Myrtilli folium, Urticae folia*). Модель сахарного диабета индуцировали введением дексаметазона в дозе 0,125 мл/кг в течение 15 суток. Проводили гистологическое исследование хвостовой части поджелудочной железы, где определяли оптическую плотность панкреатических островков, островковый профиль, функциональный индекс.

В процессе исследования было выявлено, что сбор антидиабетический уменьшает деструктивно-дистрофические изменения инсулярного аппарата крыс с сахарным диабетом 2 типа. Отвар антидиабетического сбора в дозах 6 мл/кг, 9 мл/кг и 12 мл/кг при введении его одновременно с дексаметазоном уменьшает диабетогенные свойства последнего. В инсулярной ткани растет оптическая плотность панкреатических островков, в определенной степени восстанавливается нормальное процентное распределение островков по размеру, визуализируется увеличение гистологически более полноценных инсулиноцитов.

Антидиабетический эффект исследуемого растительного сбора имеет дозозависимый характер. Наиболее эффективны дозы 9 мл/кг и 12 мл/кг.



A. O. Savych <sup>1</sup>, S. M. Marchyshyn <sup>1</sup>, N. M. Ostrovsky <sup>1</sup>, Y. B. Laryanovska <sup>2</sup>

<sup>1</sup> SHEI «Horbachevsky State Medical University of the Ministry of Public Health of Ukraine»

<sup>2</sup> National University of Pharmacy, Kharkiv

## HISTOLOGICAL STUDY OF THE INFLUENCE OF ANTIDIABETIC PLANT COLLECTION ON PANCREATIC TISSUE IN RATS WITH DIABETES MELLITUS, WHICH IS INDUCED BY DEXAMETHASONE

**Key words:** antidiabetic plant collection, diabetes mellitus, histological study, pancreatic  $\beta$ -cells

### ABSTRACT

Diabetes mellitus is a global problem today, because there is a sharp increase the number of patients in the world each year. Severe complications of diabetes are very dangerous because it can lead to disability of patients and high mortality.

The aim of our work was to study the protective effect of antidiabetic plant collection on the pancreas in rats with diabetes type 2, caused by the introduction of dexamethasone.

The research materials were pancreatic tissue of rats with experimental diabetes that received the decoction (1:10) of antidiabetic plant collection (which includes *Equiseti arvensis herba*, *Sambuci flores*, *Inulae rhizomata et radices*, *Hyperici herba*, *Tiliae flores*, *Polygoni avicularis herba*, *Myrtilli folium*, *Urticae folia*) in treatment and preventive mode. The model of diabetes mellitus was induced by administration of dexamethasone 0.125 ml/kg for 15 days.

Decoction of antidiabetic plant collection in doses 6 ml/kg, 9 ml/kg and 12 ml/kg reduces diabetogenic properties of dexamethasone when administered simultaneously. The insular tissue increases absorbance pancreatic islets, to some extent restored the normal percentage distribution of the islets in size, histologically visualized the increase more high-grade cells.

The study found that antidiabetic plant collection reduces destructive-dystrophic changes of insular apparatus in rats with diabetes type 2. Antidiabetic effect of the studied plant collection has dose-dependent nature. The most effective conditional-effective doses are 9 and 12 ml/kg.

*Електронна адреса для листування з авторами: [svitlanafarm@ukr.net](mailto:svitlanafarm@ukr.net)*