

УДК 616.36-005:611.16-018]:615.322:582.635.38]-092.9
DOI <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2025-2-16>

Микола ШЕВЧУК

кандидат медичних наук, доцент, доцент кафедри патологічної анатомії та судової медицини,
ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»,
mukola.shev4yk@gmail.com

ORCID: 0000-0001-7852-5980

СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ І КВАНТИТАТИВНИЙ АНАЛІЗ ОСНОВНИХ КЛІТИН СТІНКИ СИНУСОЇДНИХ КАПІЛЯРІВ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ 8 ТИЖНІВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВПЛИВУ ОЛІЇ КАНАБІДІОЛУ

Канабідіол (КБД) – непсихотропний фітоканабіноїд *Cannabis sativa* з терапевтичним потенціалом застосування, який використовується для лікування дітей з важкими формами епілепсії при синдромі Драве та Леннокса-Гасто. Доклінічні випробування та клінічні дослідження демонструють позитивний вплив КБД на організм. Однак є повідомлення про можливі побічні ефекти з боку різних органів та систем, особливо при високих дозах або після тривалого застосування. Особливе занепокоєння викликає ризик гепатотоксичності, індукованої КБД. Експериментальні морфологічні дослідження печінки є необхідними для встановлення безпеки застосування КБД.

Мета роботи: визначити структурну організацію і провести кількісний аналіз клітинного складу синусоїдних капілярів печінки щурів після 8 тижнів експериментального впливу 10% олії КБД.

Методологія. Серія експерименту проведена в умовах віварію на 20 білих нелінійних щурах-самцях масою 180–230 г, віком 5–7 місяців у відповідності до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях. Основна група – 14 щурів, які отримували впродовж 8 тижнів перорально 10% олію КБД 1 раз на добу (доза 10 мг/кг). Виробник досліджуваного засобу – ліцензована «Aroma Extract Labs s.r.o.» (Praha, Czech Republic). Контрольна група – 6 інтактних статевозрілих білих щурів-самців. Наприкінці експерименту після евтаназії проводили забір печінки для морфологічного дослідження. Здійснили гістологічне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження клітинного складу синусоїдів печінки. Для кількісного аналізу синусоїдних капілярів печінки проводили підрахунок основних клітин синусоїдної стінки в різних зонах печінкових часточок на площі 0,01 мм² гістологічного препарату (100 мкм×100 мкм). Дані представлені у вигляді середніх та відсоткових значень і їх похибок. Достовірність різниці середніх показників визначали за критерієм Манна-Уїтні, відсоткових показників – за критерієм Пірсона (χ^2). При всіх порівняннях різниця вважалася статистично значущою при мінімальному рівні значимості $p < 0,05$.

Наукова новизна. Встановлено відсутність дистрофічних змін у синусоїдних капілярах, морфологічних ознак порушень гомеостазу і розладів гемодинаміки не діагностовано, як і деструктивних змін ендотеліоцитів і клітин Купфера. У всіх зонах печінкової часточки середні показники клітин Купфера достовірно перевищували відповідні показники контрольної групи $p (U) < 0,0001$, що можна пояснити гіперплазією клітин Купфера і їх ключовою роллю в імунній регуляції. Середній показник клітин CD31 стінки синусоїдів був достовірно менший за відповідний показник контрольної групи $p (U) < 0,0001$ у всіх зонах печінкової часточки внаслідок збільшення діаметра синусоїдів через вазодилататорний ефект КБД. Перисинусоїдних клітин в експериментальній серії у всіх зонах печінкової часточки було найменше порівняно з ендотеліоцитами і клітинами Купфера ($p < 0,05$), що є важливим для оцінки експериментального впливу олії КБД на печінку.

Висновки. Під час проведеного експериментального дослідження було встановлено, що застосування 10% олії КБД впродовж 8 тижнів в дозі 10 мг/кг/добу не має негативного впливу на печінку.

Ключові слова: Канабідіол, КБД, CBD, щури, печінка, гістологія, синусоїди, ендотеліоцити, клітини Купфера, перисинусоїдні клітини, морфометрія.

Mykola Shevchuk. STRUCTURAL ORGANIZATION AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF MAIN CELLS OF HEPATIC SINUSOIDAL WALL OF RATS AFTER 8 WEEKS OF EXPERIMENTAL EXPOSURE TO CANNABIDIOL OIL

Introduction. Cannabidiol (CBD) is a non-psychoactive phytocannabinoid of *Cannabis sativa* with therapeutic potential, which is used to treat children with severe forms of epilepsy in Dravet and Lennox-Gastaut syndrome. Preclinical trials and clinical studies demonstrate the positive effects of CBD on the body. However, there are reports of possible side effects from various organs and systems, especially at high doses or after prolonged use. Of particular concern is the risk of CBD-induced hepatotoxicity. Experimental morphological studies of the liver are necessary, especially the study of the effect of CBD on the liver sinusoids to establish the safety of use.

The purpose of the study: to determine the structural organization and conduct a quantitative analysis of the cellular composition of rat liver sinusoidal capillaries after 8 weeks of experimental exposure to 10% CBD oil.

Methodology. The experimental series was conducted in vivarium conditions on 20 white non-linear male rats weighing 180–230 g, aged 5–7 months in accordance with the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes. The main group was 14 rats that received 10% CBD oil orally once a day (dose 10 mg/kg) for 8 weeks. The manufacturer of the studied product was the licensed Aroma Extract Labs s.r.o. (Praha,

Czech Republic). The control group was 6 intact sexually mature white male rats. At the end of the experiment, after euthanasia, liver tissue was collected for morphological study. Histological, immunohistochemical and morphometric studies of the cellular composition of the liver sinusoids were performed. For quantitative analysis of liver sinusoidal capillaries, the main cells of the sinusoidal wall were counted in different zones of hepatic lobules on an area of 0.01 mm² of histological preparation (100 µm×100 µm). The data are presented as mean and percentage values and their errors. The significance of the difference in mean values was determined by the Mann-Whitney test, and percentage values by the Pearson test (χ^2). In all comparisons, the difference was considered statistically significant at a minimum significance level of $p < 0.05$.

Scientific novelty: The absence of dystrophic changes in sinusoidal capillaries was established, morphological signs of hemostasis disorders and hemodynamic disorders were not diagnosed, as well as destructive changes in endothelial cells and Kupffer cells. In all areas of the hepatic lobule, the average values of Kupffer cells significantly exceeded the corresponding values of the control group $p (U) < 0.0001$, which can be explained by Kupffer cell hyperplasia and their key role in immune regulation. The average value of CD31 cells in the sinusoidal wall was significantly lower than the corresponding value of the control group $p (U) < 0.0001$ in all areas of the hepatic lobule, due to an increase in the diameter of the sinusoids due to the vasodilatory effect of CBD. Perisinusoidal cells in the experimental series were the least numerous in all areas of the hepatic lobule compared to endothelial cells and Kupffer cells ($p < 0.05$). However, studying the morphological features of perisinusoidal cells is important for assessing the experimental effect of CBD oil on the liver.

Conclusions. The results of morphological and morphometric analysis of liver sinusoids after two and four weeks of experimental exposure to CBD indicate the safety of using a 10% CBD oil at a dose of 10 mg/kg/day.

Key words: Cannabidiol, CBD, rats, liver, sinusoids, histology, morphometry.

Вступ. Канабідіол (КБД) є непсихотропним компонентом *Cannabis sativa*, а зростаюча популярність його зумовлена потенційними терапевтичними властивостями. Численні доклінічні дослідження на клітинних і тваринних моделях, а також клінічні випробування на людях продемонстрували позитивний вплив КБД на фізіологічні й патологічні процеси [20]. Доклінічними дослідженнями підтверджено наявність нейропротекторних, кардіопротекторних, анкіолітичних та інших властивостей [6; 8; 25]. Управління за контролю за продуктами харчування та лікарськими засобами США схвалило його використання для лікування судом у дітей при синдромах Леннокса-Гасто та синдрому Драве як ліцензований препарат Epidiolex [11; 12; 15]. КБД в Україні також є на 100% легальною речовиною, оскільки, як речовина, він виключений з переліку наркотичних та психотропних речовин (Постанова КМУ від 06.05.2000 № 770, Постанова КМУ від 07 квітня 2021 року № 324) [2].

Терапевтичний потенціал використання КБД зареєстровано у лікуванні різноманітних нейродегенеративних захворювань та нейропсихіатричних станів [7; 17], серцево-судинних захворювань завдяки його протизапальним, вазодилататорним, антифібротичним та антиоксидантним властивостям при різних станах, таких як діабетична кардіоміопатія, міокардит, кардіотоксичність, індукована доксорубіцином, та ішемічно-реперфузійне пошкодження [20], захворювань печінки, включаючи стеатоз печінки, пов'язаний з метаболічною дисфункцією, алкогольну хворобу печінки, фіброз печінки, гепатоцелюлярну карциному, вірусну інфекцію, аутоімунний гепатит та інші [9].

КБД має високу спорідненість з канабіноїдними рецепторами (білками, які розташовані на поверхні клітин і зв'язуються з ендоканабіноїдами чи фітоканабіноїдами) двох типів: 1 типу (CB1) і 2 типу

(CB2) й, модулюючи активність цих рецепторів різними способами, фітоканабіноїд проявляє терапевтичні ефекти. CB1 рецептори знаходяться переважно в центральній нервовій системі, але також присутні в інших тканинах, тоді як CB2 рецептори знаходяться переважно в периферичній нервовій системі та імунних клітинах [22]. У печінці рецептори CB1 знаходяться в гепатоцитах, ендотеліальних клітинах і зірчастих клітинах Іто, тоді як рецептори CB2 експресуються в клітинах Купфера, міофібробластах печінки, але не експресуються гепатоцитами [19]. За фізіологічних умов ендоканабіноїдна система мало активна, оскільки рецептори CB1 та CB2 слабо експресуються.

Вивчення фармакологічних ефектів КБД зростає в останні роки, однак клінічні випробування, що стосуються КБД, та моніторинг його ефектів обмежені. Важливо також враховувати потенційні побічні ефекти і необхідність подальших досліджень для забезпечення його безпечного та ефективного використання. Щодо потенційної токсичності КБД для печінки, дослідження на тваринах показали, що КБД може викликати ураження печінки, підвищення печінкових ферментів. Подібні спостереження були зареєстровані в деяких клінічних дослідженнях за участю пацієнтів з епілепсією, резистентною до лікування, як у дітей, так і в дорослих. Підвищений рівень печінкових ферментів, зокрема аланінамінотрансфераза, спостерігався у деяких пацієнтів, особливо коли КБД одночасно вводили з іншими препаратами, такими як вальпроат натрію. Однак гепатотоксичність також спостерігалася у здорових добровольців без супутніх лікарських препаратів, що свідчить про те, що вплив КБД на печінку може бути результатом прямого пошкодження гепатоцитів, викликаного препаратами [9].

Таким чином, важливими є морфологічні дослідження КБД-асоційованої гепатотоксичності,

особливо після довготривалого застосування, визначення змін паренхіматозного і стромально-судинного компартмента печінки для забезпечення його безпечного та ефективного використання.

Мета дослідження: визначити структурну організацію і провести кількісний аналіз клітинного складу синусоїдних капілярів печінки щурів після 8 тижнів експериментального впливу 10% олії КБД.

Матеріали та методи дослідження. Серія експерименту проведена в умовах віварію на 20 білих нелінійних щурах-самцях масою 180–230 г, віком 5–7 місяців на початок дослідження після етичного схвалення комісією з питань біоетики у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького (протокол №7 від 29.08.2022 року) у відповідності до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 2010/63/ EU, Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорсткого поводження» [13; 14].

Основну групу експерименту склали 14 щурів, які отримували впродовж 8 тижнів перорально 10% олію КБД 1 раз на добу (доза 10 мг/кг). Виробник досліджуваного засобу – ліцензована «Aroma Extract Labs s.r.o.» (Praha, Czech Republic). Контрольну групу експерименту склали 6 інтактних статевозрілих білих щурів-самців. Під час експериментального дослідження спостерігали за загальним станом щурів. Наприкінці експерименту після евтаназії проводили забір матеріалу для морфологічного дослідження. Матеріалом для дослідження слугувала печінка. Зразки тканини печінки піддавали фіксації, дегідратації, знежиренню і заливали в розплавлений парафін для виготовлення парафінових блоків за стандартною методикою [24]. В подальшому отримували гістологічні зрізи товщиною 5 ± 1 мкм, забарвлювали гематоксиліном-еозином для мікроскопічного дослідження і діагностики. В окремих випадках для прицільного вивчення синусоїдів печінкових часточок виготовляли серійні напівтонкі зрізи товщиною 0,5–1 мкм з епоксидних блоків за загальноприйнятою методикою. Напівтонкі зрізи забарвлювали метиленовим синім–основним фуксином, вивчали під світловим мікроскопом при збільшенні мікроскопа $\times 1000$ (імерсія) [3; 16].

Були також проведені імуногістохімічні дослідження синусоїдів печінки. Виготовлені з парафінових блоків гістологічні зрізи товщиною 5 ± 1 мкм наносили на високоадгезивні скельця «Super Frost». Демаскування проводили у цитратному буфері, pH-6,0, а візуалізацію імуногістохімічної реакції виконували за допомогою системи детекції DAKO EnVision+System з хромогеном DAB

(діамінобензидин) за стандартною методикою [18; 21]. Нами були використані моноклональні антитіла для макрофагів CD68 (Клон KP1, DAKO), ендотелію судин CD31 (Клон JC70A, Thermo Fisher scientific), NK-клітин CD56 (Клон 123C3, Master Diagnostica). Дослідження проводили відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюями.

Для дослідження гістологічних препаратів використовували світлооптичний мікроскоп Leica DM 2500 (Leica Microsystems GmbH, Німеччина) з цифровою камерою Leica DFC450 C (Німеччина) та ліцензованим програмним забезпеченням Leica Application Suit Version 3.8. Для кількісного аналізу синусоїдних капілярів печінки нами проводився підрахунок основних клітин синусоїдної стінки в різних зонах печінкових часточок. Підрахунки вели в синусоїдах навколо центральної вени, біля порталних трактів і в проміжній зоні (між триадою і центральною веною) на площі $0,01 \text{ мм}^2$ гістологічного препарату ($100 \text{ мкм} \times 100 \text{ мкм}$).

Обробка даних проводилася прикладними статистичними методами, які використовуються в медицині за допомогою програми R Commander (version 2.7-2, GNU General Public License) на базі операційної системи Windows. Дані представлені у вигляді середніх значень: середнє арифметичне із стандартним відхиленням ($M \pm SD$), достовірність різниці між цими показниками визначали за критерієм Манна-Уїтні. Відсоткові показники представлені у вигляді часток та 95% довірчих інтервалів [$95\% DI$]. Довірчі інтервали вираховували за критерієм-ф кутового перетворення Фішера. Достовірність різниці відсоткових показників визначали за критерієм Пірсона (χ^2). При усіх порівняннях різниця вважалася статистично значущою при мінімальному рівні значимості $p < 0,05$ [1].

Результати дослідження та їх обговорення. У попередніх серіях проведеного експериментального дослідження нами було представлено результати короткострокових досліджень (два і чотири тижні) впливу олії КБД на синусоїди печінки. Результати морфологічного і морфометричного аналізу синусоїдів печінки після двох і чотирьох тижнів експериментального впливу КБД вказують про безпечність застосування 10% олії КБД в дозі 10 мг/кг/добу [4]. Також раніше нами був проведений морфометричний аналіз судин мікроциркуляторного русла печінки (судин порталних трактів – міжчасточкової, навколочасточкової вен і артерій, судин системи відтоку крові від часточки печінки – центральної вени, підчасточкової і збірної вен) після 8 тижнів експерименту і встановлено, що середні показники діаметрів підчасточкової і збірної вен, міжчасточкових артерій достовірно не відрізнялися від контрольної групи ($p > 0,05$), в той час, як середні показники діаметрів міжчасточкової,

навколочасточкової і центральної вен достовірно відрізнялися від контрольної групи ($p < 0,05$) [5].

Для з'ясування впливу КБД у довгостроковій перспективі на структурну організацію синусоїдних капілярів печінки з кількісним аналізом клітинного складу стінки синусоїдів нами було проведене експериментальне дослідження 8-ти тижневого застосуванням КБД як дієтичної добавки у дозі 10 мг/кг маси тіла/день.

Синусоїди печінки при мікроскопічному дослідженні формують між собою лабіринтоподібні структури з анастомозами у всіх напрямках (рис. 1). У напівтонких зрізах виглядають помірно розширені, особливо в перипортальних і проміжній зонах, а в окремих полях зору синусоїди гіперемовані. Середній діаметр синусоїдів достовірно відрізнявся від контрольної групи ($p < 0,0001$). Дилатація і гіперемія одиничних синусоїдів була діагнована в 10 з 14 випадків (71,43%), достовірність різниці відсоткових показників становила $p(\chi^2) = 0,003$, а дилатація і повнокров'я множинних синусоїдів у різних полях зору діагнована в 4 (28,57 %) з 14 випадків, достовірність різниці відсоткових показників становила $p(\chi^2) = 0,01$ за критерієм Пірсона.

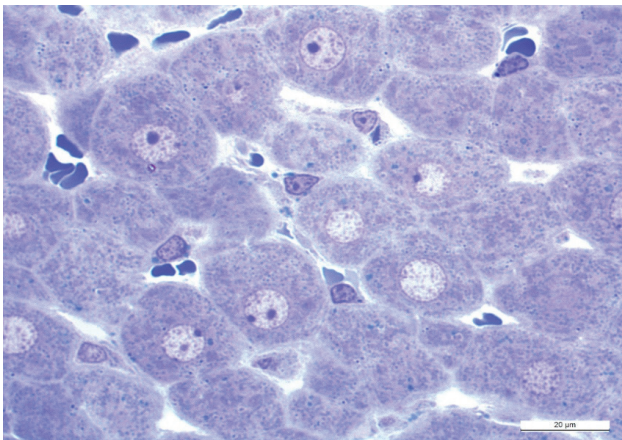


Рис. 1. Печінка щура після 8 тижнів експериментального застосування олії КБД. Синусоїди формують між собою лабіринтоподібні структури з анастомозами у всіх напрямках, окремі з них помірно дилатовані. Напівтонкий препарат (1мкм), забарвлення метиленовим синім – основним фуксином, $\times 1000$ (імерсія)

При світловій мікроскопії стінка синусоїдів на всьому протязі вистелена ендотеліальними клітинами переважно продовгуватої і плескатої форми з гіперхромним ядром при забарвленні гематоксиліном та еозином. В окремих полях зору діагностувалися набряк і випинання ендотеліоцитів в синусоїдний простір, що вказувало на гіперактивність

клітин. Ендотеліальні клітини добре візуалізувалися при імуногістохімічному типуванні з моноклональними антитілами CD31. Ендотелій збережений, окремі синусоїди дилатовані (рис. 2).

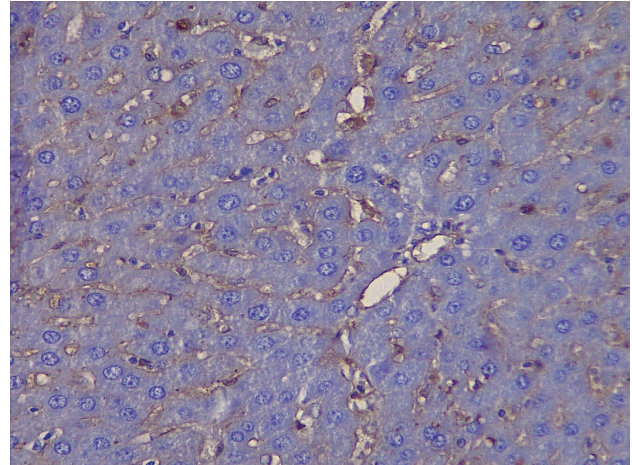


Рис. 2. Ендотелій у синусоїдах збережений, окремі синусоїди дилатовані. ІГХ типування ендотелію за допомогою маркера CD31, $\times 400$

До синусоїдних клітин також відносяться органоспецифічні резидентні макрофаги печінки – клітини Купфера, які розташовуються між ендотеліоцитами, забезпечуючи цілісність стінки синусоїда. У серії експериментального дослідження після 8 тижнів застосування олії КБД ми звернули увагу на гіпертрофію клітин Купфера не тільки навколо портальних трактів, але й у проміжній, і центральній зонах часточки. Гіперплазія клітин Купфера також була помітною у всіх випадках серії експериментального дослідження (рис. 3). У контрольній групі клітини Купфера локалізувалися переважно навколо портальних трактів, в проміжній і центральній частині часточки їх значно менше. Відомо, що клітини Купфера першими зустрічають кров, яка відтікає від кишківника і містить імуногени. Таким чином, фагоцитарна функція клітин Купфера є важливою ланкою у підтримці сталості внутрішнього середовища організму.

Крім ендотеліоцитів і клітин Купфера, з боку просвіту синусоїдів візуалізувалися специфічні Ріт-клітини, відомі як ямкові клітини, які є різновидом лімфоцитів і виконують функцію натуральних кілерів (NK-клітин) печінки. Ріт-клітини є важливим компонентом вродженої імунної системи печінки, взаємодіють з клітинами Купфера і гепатоцитами. Мікроскопічно були представлені великими зернистими лімфоцитами, розташовувалися на ендотеліальних клітинах або між ними. Імуногістохімічне типування за допомогою маркера CD56 дозволило візуалізувати NK-клітин і провести кількісний аналіз (рис. 4).

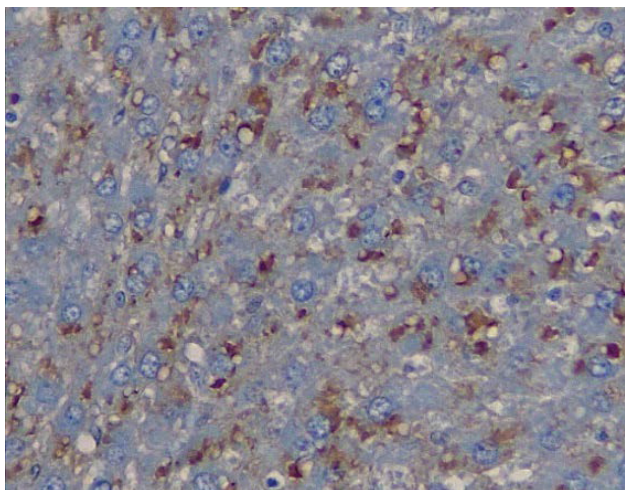


Рис. 3. Гіперплазія і гіпертрофія клітин Купфера в синусоїдах проміжної зони печінкової часточки. ІГХ типування клітин Купфера за допомогою маркера CD68, $\times 400$

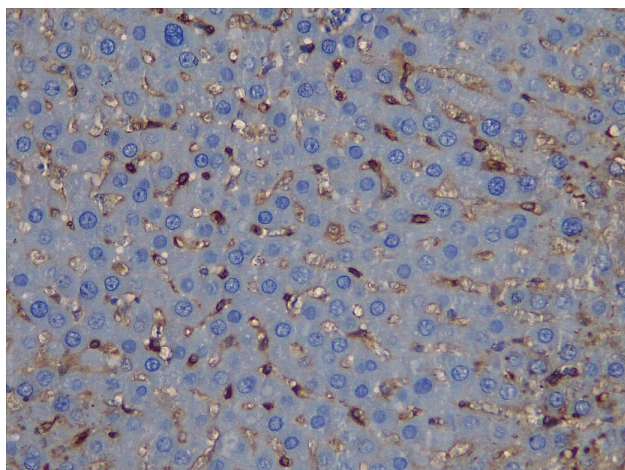


Рис. 4. NK-клітини з високою експресією CD56 в синусоїдах проміжної зони печінкової часточки. ІГХ типування NK-клітин за допомогою маркера CD56, $\times 400$

У перисинусоїдному просторі печінки (простір Діссе) знаходяться зірчасті клітини Іто (жиронакопичуючі клітини, ліпоцити), які мають округлу, ледь витягнуту або неправильну форму, велике ядро і ліпідні включення у вигляді крапель. Розширення перисинусоїдного простору нами не діагностувалося. Клітини Іто складають найменшу частину від загальної кількості клітин печінки, відіграють ключову роль у накопиченні і збереженні вітаміну А та в процесах фіброзу печінки при різних патології.

Нами проведений кількісний аналіз клітинного складу синусоїдних капілярів печінки щурів після 8 тижнів експериментального впливу олії КБД. Для цього було проведено підрахунок основних клітин

стілки синусоїдів на площі гістологічного препарату $0,01 \text{ мм}^2$ ($100 \text{ мкм} \times 100 \text{ мкм}$) в різних зонах печінкової часточки, використовуючи традиційну класичну концепцію, де центральна вена є центральною зоною, триади – периферичною (перипортальною) зоною, а проміжна зона – мідзональною (мідлобулярною). Згідно з моделлю Раппапорта ацинус печінки розділяється на три ацинарні зони (1, 2 і 3) –перипортальна (1), проміжна (2) і перичентральна (3) [23]. Кількісна характеристика ендотеліоцитів, клітин Купфера, перисинусоїдних клітин в класичній печінковій часточці в експериментальній серії після 8 тижнів впливу КБД і в контрольній групі представлена на рис. 5-7.

Порівняння середніх показників ендотеліоцитів (CD31 позитивних клітин) на площі гістологічного препарату $0,01 \text{ мм}^2$ експериментальної групи КБД на кінець 8 тижня ($M \pm SD$) з контрольною групою представлено на рис. 5. Аналіз середніх показників ендотеліоцитів на площі $0,01 \text{ мм}^2$ продемонстрував достовірну різницю у всіх зонах печінкових часточок. В експериментальній групі в 1 зоні (перипортальній) печінкових часточок середній показник ендотеліоцитів був найменшим в порівнянні з іншими зонами, склав $5,03 \pm 0,13$ і достовірно відрізнявся від показника контрольної групи ($5,22 \pm 0,17$), $p(U)=0,002$. У проміжній (мідлобулярній) 2 зоні середній показник ендотеліоцитів склав $5,46 \pm 0,28$, і також був меншим від групи контролю ($5,79 \pm 0,18$), $p(U)=0,002$. Навколо центральної вени (3 зона) середній показник ендотеліоцитів склав $12,83 \pm 0,22$, значно перевищував показники в інших зонах і також достовірно відрізнявся від контрольної групи ($13,12 \pm 0,3$), $p(U)=0,01$.

Порівняльний аналіз середніх показників клітин CD31 на площі $0,01 \text{ мм}^2$ в експериментальній і контрольній серіях дозволив встановити, що у всіх зонах печінкової часточки середній показник клітин CD31 в експериментальній серії був достовірно менший за відповідний показник в контрольній групі, що можна пояснити частковою дилатацією синусоїдів, відповідно, більшим середнім показником діаметра синусоїдів, покращенням притоку крові до печінкової часточки за умови довгострокового впливу олії КБД.

При підрахунку клітин Купфера в різних зонах часточки на площі $0,01 \text{ мм}^2$ гістологічного препарату було встановлено, що найвищий середній показник резидентних макрофагів був у зоні триади печінки (1 зона), становив $5,65 \pm 0,15$ клітин і достовірно переважав відповідний показник контрольної групи ($3,88 \pm 0,1$) у 1,46 разу, $p(U)<0,0001$, також достовірно переважав відповідні показники в 2 і 3 зонах ($p<0,05$) (рис. 6).

Як і в зоні триади, в проміжній зоні часточки і навколо центральної вени середні показники

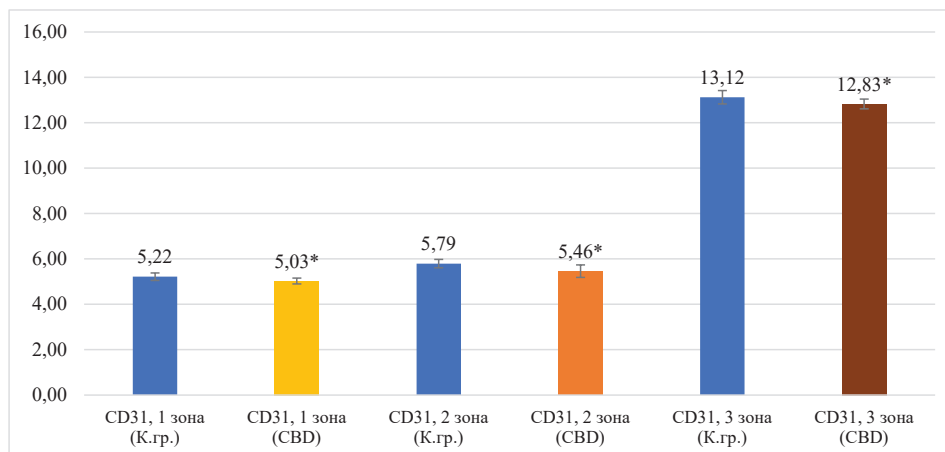


Рис. 5. Порівняння середніх показників клітин CD31 (на площі 0,01 мм²) на кінець 8 тижня експериментального впливу CBD (КБД) з контрольною групою (К.гр.) (M±SD)

Примітка: * – достовірна різниця ($p < 0,05$) з контрольною групою

клітин CD68 достовірно перевищували відповідні показники в контрольній групі, що можна пояснити гіперплазією клітин Купфера, їх ключовою роллю в імунній регуляції.

Обрахунок середніх показників перисинусоїдних клітин в експериментальній серії на площі гістологічного препарату 0,01 мм² продемонстрував достовірну різницю у всіх зонах печінкових часточок, $p < 0,05$. Перисинусоїдних клітин в експериментальній серії було більше, ніж в контрольній групі через їх активацію і проліферацію, проте при порівняльному кількісному аналізі з середніми показниками ендотеліоцитів і клітин Купфера, перисинусоїдних клітин було найменше ($p < 0,05$).

Порівняння середнього показника перисинусоїдних клітин з контрольною групою

продемонструвало найвищий показник біля триад ($2,70 \pm 0,08$), який достовірно перевищував показник контрольної групи ($2,13 \pm 0,08$), $p (U) < 0,0001$. Середній показник перисинусоїдних клітин у проміжній зоні і навколо центральної вени дорівнював, відповідно $1,99 \pm 0,09$ і $1,09 \pm 0,07$, і достовірно відрізнявся у цих зонах від контрольної групи, $p (U) < 0,0001$. Так, у проміжній зоні контрольної групи середній показник дорівнював $1,31 \pm 0,11$, навколо центральної вени – $0,67 \pm 0,07$ (рис. 7).

Таким чином, на підставі проведеного гістологічного, імуногістохімічного дослідження з кількісною оцінкою середніх показників клітинного складу синусоїдних капілярів печінки щурів після 8 тижнів експериментального впливу 10% олії КБД отримано результати, що демонструють

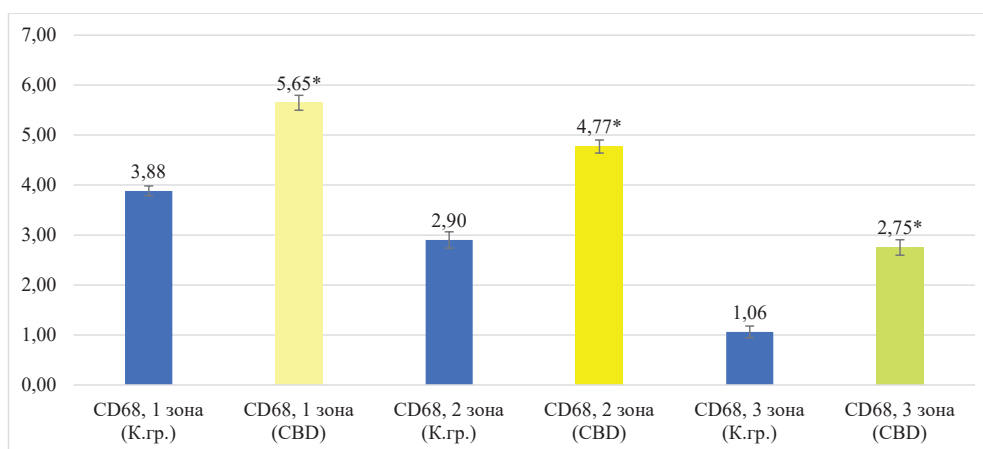


Рис. 6. Порівняння середніх показників клітин CD68 (на площі 0,01 мм²) на кінець 8 тижня експериментального впливу CBD (КБД) з контрольною групою (К.гр.) (M±SD)

Примітка: * – достовірна різниця ($p < 0,05$) з контрольною групою

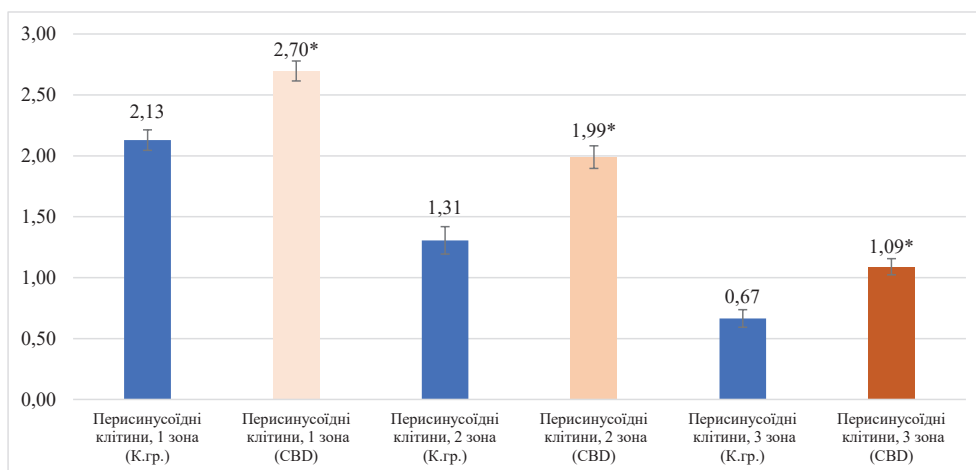


Рис. 7. Порівняння середніх показників перисинусоїдних клітин (на площі 0,01 мм²) на кінець 8 тижня експериментального впливу CBD (КБД) з контрольною групою (К.гр.) (M±SD)

Примітка: * – достовірна різниця ($p < 0,05$) з контрольною групою

відсутність дистрофічних змін в синусоїдних капілярах, порушень гемостазу і розладів гемодинаміки, деструктивних змін ендотеліоцитів і клітин Купфера, і вказують на безпеку застосування 10% олії КБД у дозі 10 мг/кг/день впродовж 8 тижнів.

Ці результати узгоджуються із представленими в літературі спостереженнями щодо оцінки довгострокової переносимості здоровими собаками перорального застосування КБД впродовж 36 тижнів у дозах 5 та 10 мг/кг/день. Було встановлено достовірне підвищення активності лужної фосфатази в обидвох групах, які отримували КБД ($p < 0,0001$), решта показників крові були в межах референтного діапазону. Автори у висновках наголошували, що хронічне введення КБД здоровим собакам у дозі 5 мг/кг/день переносилося краще, ніж 10 мг/кг/день, проте обидві дози викликали підвищення активності лужної фосфатази. Загалом отримані авторами результати на пошкодження печінки не вказують, але рекомендується контролювати функцію печінки в тварин, які хронічно отримують КБД [10].

Висновки. Під час проведеного експериментального дослідження було встановлено, що застосування 10% олії КБД впродовж 8 тижнів не має негативного впливу на печінку. Так, при гістологічному вивченні мікроциркуляторного русла печінки встановлено відсутність дистрофічних змін у синусоїдних капілярах, порушень гемостазу і розладів гемодинаміки, деструктивних змін ендотеліоцитів і клітин Купфера.

Порівняльний аналіз середніх показників ендотеліоцитів, клітин Купфера і перисинусоїдних

клітин в стінці синусоїдів на площі гістологічного препарату 0,01 мм² в експериментальній і контрольній групах продемонстрував, що тенденція розподілу клітин в різних зонах часточки зберігалася. Як і в зоні триади, в проміжній зоні часточки і навколо центральної вени середні показники клітин CD68 достовірно перевищували відповідні показники контрольної групи $p(U) < 0,0001$, що можна пояснити гіперплазією клітин Купфера і їх ключовою роллю в імунній регуляції.

При порівнянні середніх показників ендотеліоцитів (CD31 позитивних клітин) на площі 0,01 мм² в експериментальній серії з контрольною групою встановлено, що у всіх зонах печінкової часточки середній показник клітин CD31 стінки синусоїдів був достовірно менший за відповідний показник контрольної групи $p(U) < 0,0001$, внаслідок збільшення діаметра синусоїдів через вазодилаторний ефект КБД.

Перисинусоїдних клітин в експериментальній серії у всіх зонах печінкової часточки було найменше порівняно з ендотеліоцитами і клітинами Купфера ($p < 0,05$), проте вивчення морфологічних особливостей перисинусоїдних клітин є важливим для оцінки експериментального впливу олії КБД на печінку.

Перспективи подальших досліджень. Необхідні подальші дослідження для порівняння динаміки змін середніх показників клітин стінки синусоїдів на площі 0,01 мм² гістологічного препарату (ендотеліоцити, клітини Купфера, перисинусоїдні клітини) при коротко- і довгостроковому впливі олії КБД.

Література:

1. Біостатистика: підручник/ [Грузева Т.С., Лехан В.М., Огнев В.А. та ін.]; за заг.ред. Грузевої Т.С. Вінниця: *Нова Книга*, 2020. 384 с. ISBN 978-966-382-857-2
2. Постанова Кабінету Міністрів України від 07.04.2021 № 324; *Київ*. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/324-2021-п#Text> https://www.navs.edu.ua/files/zakon_ukr/2021/nov1_120421.pdf
3. Костиленко Ю. П., Старченко І. І., Прилуцький О.К. Метод епоксидної пластинації тканин, стосовно гістологічних досліджень. Морфологічний стан тканин і органів систем організму в нормі та патології: науково-практична конференція, тези доповідей. Тернопіль, 2009. 93–94. URL: <https://repository.pdmu.edu.ua/server/api/core/bitstreams/9ee725af-3961-4705-8df5-ee509c12da23/content>
4. Шевчук М. М., Волос Л. І. Порівняльна характеристика морфометричних показників синусоїдних гемокапілярів печінки після 2 і 4 тижнів експериментального впливу 10% олії канабідіолу. *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2025. 1, 77–82. <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2025-1>
5. Шевчук М. М. Вплив 8-тижневого прийому олії канабідіолу на гістоморфологію і морфометричні параметри судин мікроциркуляторного русла печінки в експерименті. *Перспективи та інновації науки*. 2025. 52(6), 2178–2193. [https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-6\(52\)-](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-6(52)-)
6. Britch S. C., Babalonis S., Walsh S. L. Cannabidiol: pharmacology and therapeutic targets. *Psychopharmacology (Berl)*. 2021. 238(1), 9–28. <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05712-8>
7. Campos A. C., Fogaça M. V., Scarante F. F., Joca S. R. L., Sales A. J., Gomes F. V., Sonogo A. B., Rodrigues N. S., Galve-Roperh I., Guimarães F. S. Plastic and Neuroprotective Mechanisms Involved in the Therapeutic Effects of Cannabidiol in Psychiatric Disorders. *Front. Pharmacol.* 2017. 8, 269. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00269>
8. Castillo-Arellano J., Canseco-Alba A., Cutler S. J., León F. The Polypharmacological Effects of Cannabidiol. *Molecules*. 2023. 28(7), 3271. <https://doi.org/10.3390/molecules28073271>
9. Chen S., Kim J. K. The Role of Cannabidiol in Liver Disease: A Systemic Review. *Int J Mol Sci*. 2024. 25(4), 2370. <https://doi.org/10.3390/ijms25042370>
10. Corsato Alvarenga I., Wilson K. M., McGrath S. Tolerability of long-term cannabidiol supplementation to healthy adult dogs. *J Vet Intern Med*. 2024. 38(1), 326–335. <https://doi.org/10.1111/jvim.16949>
11. Devinsky O., Cross J. H., Laux L., Marsh E., Miller I., Nabbout R., Scheffer I. E., Thiele E. A., Wright S. Cannabidiol in Dravet Syndrome Study Group. Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome. *N Engl J Med*. 2017. 376(21), 2011–2020. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1611618>
12. Devinsky O., Patel A. D., Cross J. H., Villanueva V., Wirrell E. C., Privitera M., Greenwood S. M., Roberts C., Checketts D., VanLandingham K. E., Zuberi S. M. GWPCARE3 Study Group. Effect of Cannabidiol on Drop Seizures in the Lennox-Gastaut Syndrome. *N Engl J Med*. 2018. 378(20), 1888–1897. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1714631>
13. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. *Off J Eur Union*. 2010. 53(L276), 33–79. URL: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>
14. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe. *Strasbourg*, 18.III.1986. URL: <https://rm.coe.int/168007a67b>
15. FDA Cross Discipline Team Leader Review. Center for Drug Evaluation and Research. Application Number: 210365Orig1s000. Summary Review. Reference ID 4282210. [(accessed on 19 November 2024)]; 2018 URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2018/210365Orig1s000SumR.pdf
16. Hayat MA. Principles and techniques of electron microscopy: Biological applications [4th ed.]. Cambridge: *Cambridge University Press*; 2000. 543 p. <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.2001.1367>
17. Ibeas Bih C., Chen T., Nunn A.V.W., Bazetel M., Dallas M., Whalley B.J. Molecular Targets of Cannabidiol in Neurological Disorders. *Neurotherapeutics*. 2015. 12, 699–730. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0377-3>
18. Magaki S., Hojat S. A., Wei B., So A., Yong W. H. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol*. 2019. 1897, 289–98. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_25
19. Mallat A., Teixeira-Clerc F., Lotersztajn S. Cannabinoid signaling and liver therapeutics. *J Hepatol*. 2013. 59(4), 891–6. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.03.032>
20. Naya N. M., Kelly J., Hogwood A., Abbate A., Toldo S. Therapeutic potential of cannabidiol (CBD) in the treatment of cardiovascular diseases. *Expert Opin Investig Drugs*. 2024. 33(7), 699–712. <https://doi.org/10.1080/13543784.2024.2351513>
21. Nguyen T. Immunohistochemistry: A Technical Guide to Current Practices. Cambridge: *Cambridge University Press*; 2022. 264 p.
22. Peng J., Fan M., An C., Ni F., Huang W., Luo J. A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2022. 130(4), 439–456. <https://doi.org/10.1111/bcpt.13710>
23. Suriawinata A. A., Thung S. N. Liver pathology: an atlas and concise guide. N.Y.: *demosMEDICAL*, 2011. 260 p.
24. Suvarna S. K., Layton C., Bancroft G. D. (Eds.). Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques, 8th Edition. *Elsevier*; 2019. 558 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00008-6>
25. Wang X., Zhang H., Liu Y., Xu Y., Yang B., Li H., Chen L. An overview on synthetic and biological activities of cannabidiol (CBD) and its derivatives. *Bioorg. Chem*. 2023. 140, 106810. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106810>

Дата надходження статті: 30.07.2025

Дата прийняття статті: 20.08.2025

Опубліковано: 14.11.2025