

С.П. Луговський¹
Т.Ю. Квітницька-Рижова¹
С.А. Михальський¹
П.П. Клименко¹
С.П. Малишева¹
Г.В. Косякова²

¹ ДУ «Інститут геронтології імені
Д.Ф. Чеботарьова НАМН України»
² Інститут біохімії імені О.В. Палла-
діна НАН України
Київ, Україна

Надійшла: 25.09.2025

Прийнята: 23.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2025.4.55-63>

УДК: 616.36:(616.379-008.64+615.9 + 616-006)-092

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ОЦІНКА ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗМІН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ТА ЙОГО КОРЕКЦІЇ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНОМ

Luhovskyi S.P. , Kvitnitskaya-Ryzhova T.Y. , Mykhalskiy S.A. , Klymenko P.P. , Malysheva S.P. , Kosiakova G.V.  Morphological characteristics and assessment of histological changes in the rats' liver under modeling type 2 diabetes and its correction by N-stearoylethanolamine.

DF Chebotarev Institute of Gerontology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine; Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. The problem of diabetes mellitus, in particular type 2 diabetes mellitus (T2DM), is becoming global worldwide, which determines the relevance of prevention, diagnosis and treatment of one of its most common complications - metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). The ability of the liver to reverse changes in DM2T determines the need to search, develop and implement in clinical practice new means of pharmacological correction of MASLD. **Objective.** Morphological characterization and development of an objective approach for comparative assessment and unification of histological changes in the liver of rats in modeling T2DM and its correction with N-stearoylethanolamine (NSE). **Methods.** A model of T2DM was reproduced in Sprague-Dawley rats (n=41) maintained on a high-fat diet (HFD) for a long time (6 months). Based on the results of liver histological examination, the effects of therapeutic action of NSE (per os, at a dose of 50 mg/kg, for 2 weeks after confirmation of the development of T2DM; scheme 1) and its preventive action (per os, at a dose of 50 mg/kg, 10 days each month; scheme 2) were studied. **Results.** Morphological studies of the liver of rats in the simulation of T2DM revealed changes characteristic of MASLD, which were determined by such histological patterns as: disruption of the histostructure of the organ; impaired blood circulation in the liver; dystrophic changes in hepatocytes, primarily steatosis; necrosis/apoptosis of hepatocytes and inflammatory changes in the liver; fibrosis, as well as compensatory and adaptive changes in hepatocytes. Based on the results obtained, a standardized unified protocol for histological examination of the liver of rats with T2DM and criteria for assessing the detected changes according to 3 assessment categories using a scoring system from «0» to «3» were developed. **Conclusion.** The implementation of the developed system for assessing histological changes in the liver during the modeling of T2DM and its correction with NSE allowed for a comparative assessment of the effects of NSE in the experiment with different schemes of its application in rats. It was found that the use of NSE according to scheme 2 compared to scheme 1 significantly (p<0.05) reduces the manifestations of such histological changes as violations of the histostructure of the organ and its blood circulation, dystrophic changes in hepatocytes, primarily steatosis, necrosis/apoptosis and inflammatory changes, as well as fibrosis. At the same time, the effect of NSE significantly (p<0.05) increases the manifestations of compensatory-adaptive restructuring of hepatocytes in the form of their hypertrophy.

Key words: type 2 diabetes mellitus; experimental model; rats; histological changes in the liver; N-stearoylethanolamine; pharmacological correction.

Luhovskyi SP, Kvitnitskaya-Ryzhova TY, Mykhalskiy SA, Klymenko PP, Malysheva SP, Kosiakova GV. [Morphological characteristics and assessment of histological changes in the rats' liver under modeling type 2 diabetes and its correction by N-stearoylethanolamine]. Morphologia. 2025;19(4):55-63. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2025.4.6-12>

 Luhovskyi S.P. 0000-0002-3948-7026;  Kvitnitskaya-Ryzhova T.Y. 0000-0002-8746-5024;

 Mykhalskiy S.A. 0000-0002-7232-4608;  Klymenko P.P. 0000-0001-9905-1956;

 Malysheva S.P. 0000-0001-9440-6359;  Kosiakova G.V. 0000-0002-1214-2044

✉ lugsp61@gmail.com

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Проблема цукрового діабету (ЦД), що є одним із найбільш поширених і багатобактерних, вік-залежних захворювань, набуває актуальності в усьому світі. За даними Всесвітньої федерації діабету (IDF) вже сьогодні приблизно 589 мільйонів дорослих віком від 20 до 79 років у всьому світі живуть з діабетом, а за прогнозом до 2050 р. число таких хворих може зрости до 853 мільйонів [1]. Найбільш поширеними факторами ризику ЦД є ожиріння, інсулінова резистентність (ІР), гіперліпідемія та метаболічний синдром (МС), а одним із ускладнень – комплекс патологічних змін печінки, описаний в літературі, як «неалкогольна жирова хвороба печінки» (НАЖХП).

Наразі поширеність НАЖХП становить близько 25% усіх хронічних захворювань печінки, що набуває глобального характеру і збільшує економічний тягар хворіб на систему охорони здоров'я в країнах світу [1-4]. Натомість за останні роки відбулось ряд подій, що стосуються НАЖХП. По-перше, запропоновано зміни в номенклатурі НАЖХП, по-друге, оновлено рекомендації щодо скринінгу та діагностики тяжких патологічних станів печінки у хворих на ЦД 2 типу (ЦД2Т), по-третє, прийнято концепцію компенсованої тяжкої хронічної хвороби печінки на основі своєчасної діагностики, профілактики та лікування [5]. Нещодавно (консенсус Дельфі, 2023 р.) було запропоновано замінити термін НАЖХП на «метаболічно асоційована жирова хвороба печінки» (МАЖХП; англ. – *Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease*; MASLD) і визначити цим терміном патологію, яку можна діагностувати у дорослих із стеатозом за допомогою неінвазивних тестів, біомаркерів у крові або за допомогою біопсії печінки у пацієнтів із надмірною вагою або аліментарним ожирінням, ЦД2Т або, принаймні, наявності двох факторів ризику МС [6]. Це принципово змінює підходи до профілактики, діагностики та лікування МАЖХП, а з урахуванням здатності печінки до зворотних змін на ранніх етапах розвитку ЦД2Т, перспектив набуває і пошук, розробка та впровадження в клінічну практику нових ефективних засобів фармакологічної корекції ЦД2Т та МАЖХП.

Серед значної кількості досліджень, присвячених пошуку ефективних засобів фармакологічної корекції ЦД, привертають увагу міnorні ліпіди, класу N-ацилетаноламінів, які проявляють широкий спектр біологічної дії завдяки їх здатності до взаємодії з канабіноїдними та неканабіноїдними рецепторами [7, 8]. Одним із їх представників є N-стеароїлетаноламін (NSE), біоактивний N-ацилетаноламін, що проявляє ефект мембрано-стабілізуючої, протизапальної, антиоксидантної та антидисліпідемічної дії. Він здатний регулювати ліпідний обмін, покращувати дисбаланс жирних кислот та нормалізувати рівень фосфоліпідів. В експериментах на щурах, на моделі ІР, було

встановлено, що NSE нормалізує вміст тригліцеридів у плазмі крові, знижує вміст глюкози та рівня інсуліну в крові, що проявляється зниженням показника НОМА-ІР [8].

Важливою умовою проведення доклінічних досліджень для оцінки ефектів лікувальної дії нових терапевтичних засобів є проведення морфологічних досліджень. Часто їх результати, особливо коли вони отримані в різних наукових підрозділах, установах і організаціях, потребують порівняння, співставлення та екстраполяції. Це можливо досягти шляхом уніфікації протоколів морфологічного дослідження, а також розробки та впровадження в практику об'єктивних методів і способів оцінки отриманих результатів.

Здатність печінки до зворотних змін на етапі розвитку патологічних станів є вагомою підставою для пошуку, скринінгу та оцінки ефективності нових засобів фармакологічної корекції ЦД, що визначає актуальність розробки уніфікованих способів оцінки морфофункціональних змін печінки при проведенні експериментальних доклінічних досліджень.

Мета

Морфологічна характеристика та розробка об'єктивного підходу для порівняльної оцінки та уніфікації гістологічних змін печінки щурів при моделюванні ЦД2Т та його корекції NSE.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були щури лінії Sprague-Dawley (n=41), віком 3,5-4 міс., масою 140-200 г. Із них 35 тварин було використано для відтворення моделі ЦД2Т, а інші як контроль. Експерименти проводили з дотриманням чинних положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, Директива 2010/63/ЄС Європейського Парламенту та Ради від 22 вересня 2010 року про захист тварин, що використовуються для наукових цілей та Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» [9-11]. Дослідження були схвалені Комісією з біоетики ДУ «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України».

Моделі ЦД2Т відтворювали, як описано Ejima C, et al [12] і рекомендовано для скринінгу та оцінки ефективності нових лікувальних засобів [13-14]. Для цього тварин впродовж 6 міс. утримували в стандартних умовах віварію на високожировій дієті (ВЖД; вміст жиру в добовому раціоні – 58%, білків – 23%, вуглеводів – 10 %) із вільним доступом до питної води. Контроль за розвитком ЦД2Т проводили за показником вмісту глюкози в крові, який визначали щомісяця впродовж експерименту за допомогою глюкометра Rightest GM-110 (Bionime GmbH, Швейцарія). Наприкінці експерименту розвиток ЦД2Т підтверджували шляхом проведення тесту на толерантність до глюкози, що включав дослідження вмісту

глюкози в крові щурів на 45, 90 і 150 хв. після однократного введення їм у шлунок 1 мл 50% розчину глюкози. Вміст глюкози на 150 хв., що перевищував 5 мкмоль/л, підтверджував розвиток ЦД2Т у щурів.

Зважаючи на те, що розвиток ЦД2Т супроводжується широким спектром метаболічних порушень, розвитком ІР, МАЖХП, а також стеатогепатиту, для вивчення ефектів терапевтичної та профілактичної дії NSE було використано два способи його застосування. Спосіб 1 включав введення щурам у шлунок за допомогою зонду 1 мл водної суспензії NSE в дозі 50 мг/кг щодня, впродовж 2-х тижнів після підтвердження у них ЦД2Т (n=10). Спосіб 2 включав введення таким самим чином і в аналогічній дозі NSE в перші 10 днів кожного місяця впродовж всього експерименту (n=10). Це відображало два підходи до вивчення терапевтичної (схема 1) та профілактичної (схема 2) дії NSE при моделюванні ЦД2Т.

По закінченню експериментів щурів умерщвляли в камері, у середовищі надмірної концентрації в повітрі CO₂. Для гістологічного дослідження відбирали шматочки печінки, які для фіксації на 72 год. занурювали в 10% розчин забуференого формаліну. Згідно загальноприйнятого протоколу [15] зразки печінки зневоднювали в порціях етанолу, просвітлювали в ксилолі та ущільнювали в парафін (Paraplast®). Гістологічні зрізи, товщиною 5 мкм, виготовляли за допомогою мікротому HM 325 (Microm, Німеччина) і фарбували гематоксилін-еозин та за методом MSB (Picro-Mallory у модифікації Зербіно Д.Д. і Лукасевич Л.Л.). Для вивчення інтенсивності апоптозу використовували метод TUNEL і набір реагентів ApopTag® Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit («Chemicon», США). Гістологічні дослідження проводили за допомогою світлового мікроскопу «Olympus BX51» (Японія), а зміни документували за допомогою фотокамери «Olympus C5050-zoom» із програмним забезпеченням «Olympus DP-Soft 3.2».

Оцінку гістологічних змін печінки проводили на підставі визначених гістологічних патернів: порушення гістоструктури печінки; порушення кровообігу; стеатоз гепатоцитів; апоптоз/некроз і запальні зміни печінки; фіброз печінки та компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів. Виявлені гістологічні зміни оцінювали за системою балів від «0» до «3». Для кількісної оцінки мікроскопічних змін при збільшенні об'єктиву x 20 використовували такі оціночні категорії як: «зміни відсутні»; «зміни присутні»; «зміни охоплюють певну частку, %» гістологічної структури, наприклад, печінкова часточка або ацинус та «кількість патологічних утворень», наприклад, вогнищ запальної інфільтрації в одиниці площі гістологічного зрізу. Результат проведеної оцінки для кожного випадку представляли середнім значенням суми всіх підрахованих балів за кожним гістологічним патерном, а загальний результат – середнім значенням загальної суми балів. Статистичний аналіз проводили методами непараметричної статистики для малих вибірок (метод рангів), а перевірку статистичних гіпотез – за Н-критерієм (Краскела-Уолліса) при $\alpha=0,05$.

Результати та їх обговорення

Результати гістологічних досліджень печінки показали, що хронічний вплив ВЖД на організм щурів викликав порушення характерної балкової будови органу, яке було обумовлене вираженими порушеннями кровообігу. Вони характеризувалися значним розширенням і повнокров'ям просвітів центральних вен та синусоїдних капілярів, а нерідко і дрібними вогнищами крововиливів. При цьому розширені та повнокровні синусоїдні капіляри нерідко утворювали різні за розміром кавернозоподібні порожнини, заповнені включеннями жиру, скупченнями лімфоцитів і лейкоцитів, а також макрофагів часто із пінистою цитоплазмою (рис. 1 а). В окремих випадках спостерігали виражену жирову емболію центральних вен і синусоїдних капілярів (рис. 1 б).

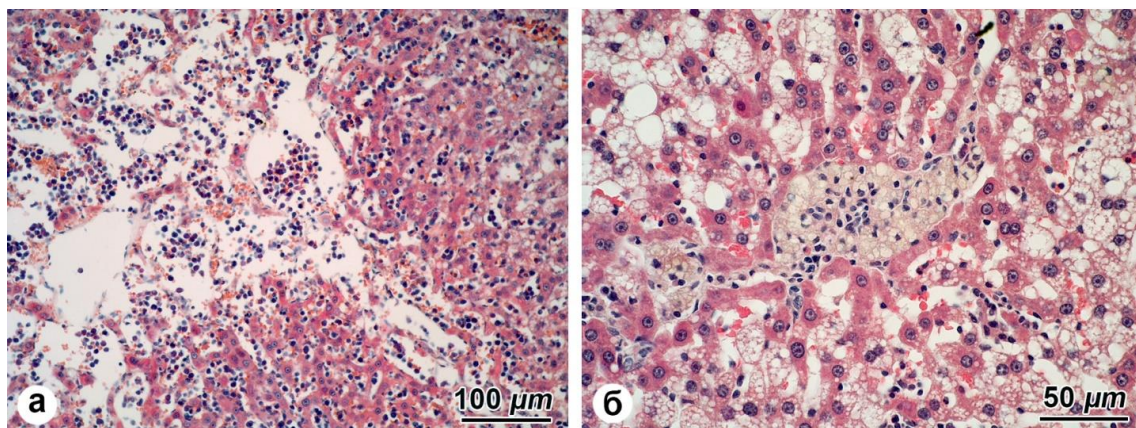


Рис. 1. Печінка щурів при моделюванні ЦД2Т. а) Розширення і повнокров'я просвітів синусоїдних капілярів з формуванням кавернозоподібних порожнин. x 200. б) Жирова емболія центральної вени на тлі стеатозу гепатоцитів перивенулярної зони. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x400.

У стінках кровоносних судин часто відмічали дистрофічно-деструктивні зміни ендотелію та їх апоптоз, на що вказувало значне, порівняно з контролем, збільшення кількості *TUNEL*-позитивних клітин у внутрішньому шарі стінки центральних вен і в стінках синусоїдних капілярів. У відповідь на таке пошкодження під шаром ендотелію часто відмічали дрібні вогнища лімфо-лейкоцитарної інфільтрації, що визначало ендотеліт, венуліт, а в окремих випадках і артеріїт (рис. 2).

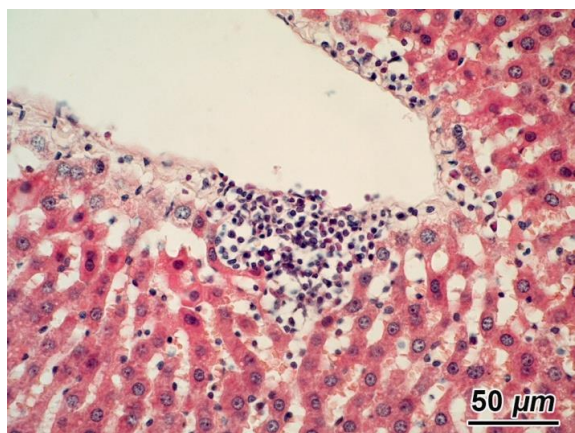


Рис. 2. Печінка щура при моделюванні ЦД2Т. Дистрофічно-деструктивні зміни ендотелію центральної вени. Вогнище запальної лімфолейкоцитарної інфільтрації під шаром ендотелію, венуліт. Забарвлення гематоксином та еозином. $\times 400$.

В паренхімі органу хронічний вплив ВЖД спричиняв дистрофічні зміни гепатоцитів у вигляді їх інтрацелюлярного набряку, гідропічної, вакуольної, білкової та жирової дистрофії (рис. 3).

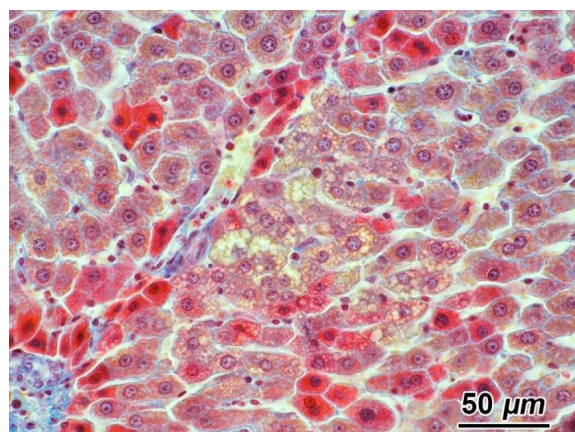


Рис. 3. Печінка щура при моделюванні ЦД2Т. Білкова дистрофія гепатоцитів (із яскраво-червоним забарвленням цитоплазми) на тлі мікроевезикулярного стеатозу гепатоцитів 3-ї зони ацинуса. Забарвлення за методом Зербіно Д.Д. і Луксевіч Л.Л. $\times 400$.

Дистрофічні зміни гепатоцитів часто супроводжувались їх апоптозом і некрозом. При цьому відмічали високу інтенсивність апоптозу гепатоцитів при моделюванні ЦД2Т, що визначали за значним, у порівнянні з контролем, збільшенням кількості *TUNEL*-позитивних клітин (рис. 4).

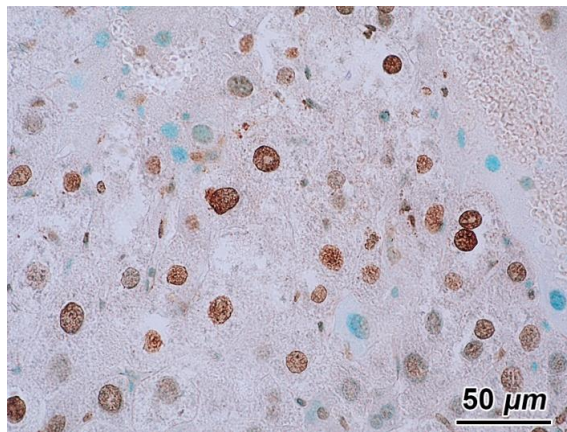


Рис. 4. Печінка щура при моделюванні ЦД2Т. Апоптоз гепатоцитів. *TUNEL*-позитивні клітини в паренхімі печінки. Метод *TUNEL*. $\times 400$.

Слід зазначити, що некроз гепатоцитів в печінці щурів при ЦД2Т був представлений різними його типами: моноцелюлярний (некроз одного гепатоцита); фокальний (некроз одного або декількох сусідніх гепатоцитів у різних зонах ацинусу), східчастий (некроз групи перипортальних або перисептальних гепатоцитів); зональний/ацинарний (некроз гепатоцитів однієї зони або всього ацинусу); субмасивний і масивний (некроз більшості або всіх гепатоцитів печінкової часточки), що завжди супроводжувалось утворенням вогнищ запальної лімфоцитарної або лімфомакрофагальної інфільтрації в місцях загибелі гепатоцитів (рис. 5 а).

Слід зазначити, що некроз гепатоцитів при впливі ВЖД часто відмічали на тлі вираженого стеатозу гепатоцитів у перивенулярній зоні печінкових часточок. Як правило, це були макро- або мікроевезикулярна форми стеатозу або його змішана макро-мікроевезикулярна форма. Натомість часто стеатоз поширювався на гепатоцити інших зон печінкового ацинусу, що призводило до ураження всієї печінкової часточки (важкий стеатоз; рис. 5 б).

На тлі дистрофічно-деструктивних і запальних змін печінки в окремих її ділянках нерідко виявляли дрібні вогнища перигепатоцелюлярного і перисинусоїдального фіброзу, а в окремих випадках і перивенулярного фіброзу (рис. 6). Це узгоджується з даними літератури про те, що розвиток ЦД2Т часто супроводжується не тільки стеатозом гепатоцитів і розвитком стеатогепатиту, але й фіброзом печінки (ФП), що є характерним для МАЖХП [10].

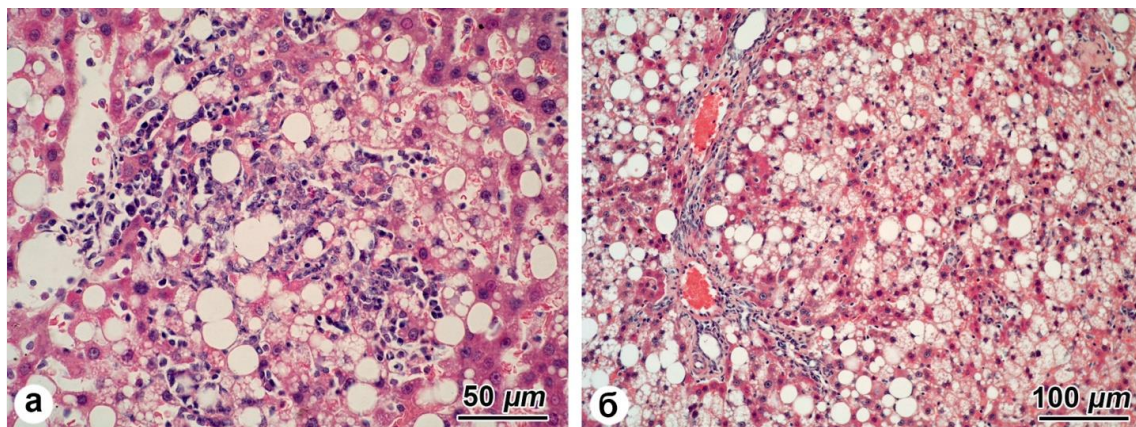


Рис. 5. Печінка щурів при моделюванні ЦД2Т. а) Субмасивний некроз і вогнище запальної лімфоцитарної інфільтрації на тлі макровезикулярного стеатозу гепатоцитів. $\times 400$. б) Важкий стеатоз гепатоцитів (змішана макро-мікроевезикулярна форма). $\times 200$. Забарвлення гематоксиліном та еозином.

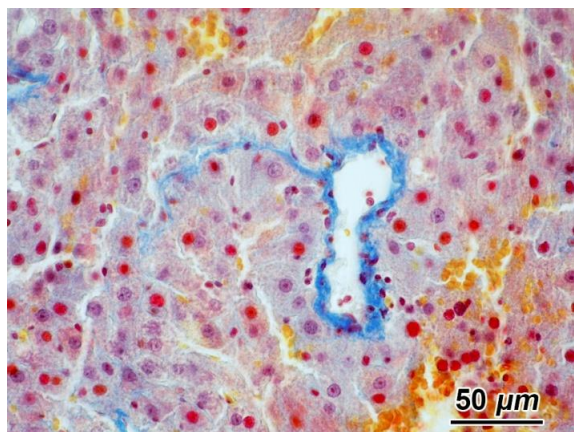


Рис. 6. Печінка щура при моделюванні ЦД2Т. Перисинусоїдальний і перивенулярний фіброз на тлі розширення та повнокров'я синусоїдних капілярів і дрібних вогнищ крововиливу. Забарвлення за методом Зербіно Д.Д. і Луксевич Л.Л. $\times 400$.

На тлі дистрофічно-деструктивних змін гепатоцитів при моделюванні ЦД2Т також спостерігали зміни, що визначають в них розвиток компенсаторно-приспосувальних перебудов. Такі зміни визначалися за наявністю гепатоцитів з ознаками гіпертрофії (гіпертрофія цитоплазма і ядра, гіперплазія та гіпертрофії ядерця), а також за збільшенням у паренхімі органу кількості 2-х ядерних гепатоцитів, а інколи і поодиноких фігур мітозу.

На підставі результатів проведених гістологічних досліджень з метою їх об'єктивної оцінки було розроблено уніфікований протокол, а за даними аналізу літератури [16-21] було визначено критерії для оцінки змін печінки за визначеними морфологічними патернами (табл. 1).

Результати оцінки гістологічних змін печінки щурів при моделюванні ЦД2Т виявили у них значні, порівняно з контролем відмінності. Так, у

контрольних щурів показник загальної оцінки гістологічних змін печінки був визначений середнім значенням цього показника в 1 бал, а у щурів із ЦД2Т – 13,3 бали, відповідно ($p < 0,05$; табл. 2). Такі відмінності між різними групами щурів були обумовлені: порушенням гістоструктури печінки (у контролі – 0 балів, при ЦД2Т – 2,3 бали); порушеннями кровообігу в печінці (у контролі – 0 балів, при ЦД2Т – 2 бали), дистрофічними змінами гепатоцитів (без їх стеатозу, у контролі – 0,5 балів, при ЦД2Т – 2 бали) і стеатозом гепатоцитів (у контролі – 0 балів, при ЦД2Т – 2,6 бали); апоптозом і некрозом гепатоцитів (у контролі – 0 балів, при ЦД2Т – 2,8 бали); запальною інфільтрацією печінки (у контролі – 0,5 балів, при ЦД2Т – 2,8 бали); фіброзом печінки (у контролі – 0 балів, при ЦД2Т – 1,6 бали; табл. 2).

Слід зазначити, що на тлі дистрофічно-деструктивних і запальних змін печінки при моделюванні ЦД2Т в паренхімі органу часто спостерігали компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів, загальна оцінка яких була визначена середнім значенням у 0,6 бали (у контролі – 0,3 бали; $p < 0,05$). Це вказувало на високу здатність печінки до відновлення при розвитку ЦД2Т.

Дослідження та оцінка ефектів впливу NSE при ЦД2Т за умови його застосування за схемою 1 (модель терапевтичної дії NSE) і за схемою 2 (модель профілактичної дії NSE) показали, що ефективність застосування NSE за схемою 1 значно перевищує ефективність застосування NSE за схемою 2. Це було визначено за показником загальної оцінки гістологічних змін печінки дистрофічно-деструктивної спрямованості. Його середнє значення при застосуванні NSE за схемою 1 дорівнювало 11,6 бали (при ЦД2Т – 13,3; $p < 0,05$), а при застосуванні NSE за схемою 2 – 5,3 бали, відповідно, що характеризує значимі відмінності між групами при різних способах його застосування ($p < 0,05$; табл. 2).

Таблиця 1

Оцінка гістологічних змін печінки щурів при моделюванні цукрового діабету 2 типу за системою балів

Морфологічні патерни та їх гістологічна характеристика	Бали			
	«0»	«1»	«2»	«3»
Порушення гістоструктури*	-	3-5%	6-33%	66%
Порушення кровообігу:				
- повнокров'я вен і синусоїдних капілярів	-	+	+	+
- розширення та повнокров'я синусоїдних капілярів із кавернозоподібними порожнинами	-	-	+	+
- тромбоз та/або жирова емболія	-	-	-	+
- капілярит, венулит, артеріт	-	-	-	+
Стеатоз гепатоцитів:				
- макровезикулярний	<5%	5-33%	33-66%	>66%
- мікрровезикулярний	<5%	5-33%	33-66%	>66%
- змішаний	-	-	1-5%	>5%
Дистрофічні зміни гепатоцитів (білкова, гідропічна, вакуольна та ін.)*	-	3-5%	6-33%	>33%
Некроз/апоптоз:†				
- моноцелюлярний некроз/апоптоз	-	0-1	+	+
- фокальний	-	1-2	>2	+
- східчастий	-	-	1-2	+
- зональний/ацинарний	-	-	1-2	>2
- субмасивний і/або масивний	-	-	-	1-2>
Запальна інфільтрація†	-	1	1-2	>2
Фіброз печінки:				
- перигепатоцелюлярний та/або перисинусоїдальний	-	+	+	+
- перивенулярний	-	-	+	+
- перипортальний, іноді портальний	-	-	-	+
Компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів (гіпертрофія, мітоз, 2-х ядерні гепатоцити)*	<5%	5-33%	33-66%	-

Примітки. Оцінка в балах: «0» – зміни відсутні; «1» – зміни незначні (легкі); «2» – зміни помірні; «3» – зміни виражені (важкі). Оцінка за наявністю змін: «-» – відсутні; «+» – наявні. Оцінка кількості: * – відносна кількість (%) уражених клітин або ураженої площі гістологічного зрізу; † – абсолютна кількість вогнищ некрозу та запалення в одиниці тестової площі (при збільшенні об'єктиву x20).

Таблиця 2

Оцінка гістологічних змін печінки щурів при моделюванні цукрового діабету 2 типу та його корекції NSE при різних схемах застосування, бали

Гістологічні зміни (морфологічні патерни)	Група			
	Контр.	ЦД2Т	ЦД2Т+ NSE	
			Схема 1	Схема 2
Порушення гістоструктури	0	2,3	1,6*	0,5**†
Порушення кровообігу	0	2,0	1,2*	0,5**†
Стеатоз гепатоцитів	0	2,6	2,4*	1,0**†
Дистрофічні зміни гепатоцитів	0,5	2,0	1,8	1,0**†
Некроз/апоптоз	0	2,8	2,0*	0,8**†
Запальна інфільтрація	0,5	2,8	1,8*	1,2**†
Фіброз печінки	0	1,6	0,8*	0,3**†
Загальна оцінка (середній бал)	1,0	13,3	11,6*	5,3**†
Компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів	0,3	0,6	1,5*	1,3**†

Примітка: * – $p < 0,05$ при порівнянні з групою ЦД2Т; † – $p < 0,05$ при порівнянні групи «Схема 1» із групою «Схема 2».

Із даних таблиці (табл. 2) видно, що більш висока ефективність застосування NSE за способом 2 визначалася за значимим ($p < 0,05$) у порівнянні зі способом 1 зменшенням в печінці морфологічних проявів порушення гістоструктури печінки та її кровообігу, дистрофічних змін гепатоцитів і, в першу чергу, стеатозу гепатоцитів, а також некро-запальних змін печінки та її фіброзу. При цьому висока інтенсивність компенсаторно-приспосувальних перебудов гепатоцитів не виявляла значимих відмінностей у щурів із різними способами застосування NSE при моделюванні ЦД2Т.

Висновки

1. Морфологічні дослідження печінки щурів при моделюванні ЦД2Т (модель відтворювали шляхом тривалого, 6 міс., утримання тварин на ВЖД) виявили характерні для МАЖХП зміни, що характеризувалися морфологічними патернами: порушення гістоструктури печінки; порушення кровообігу; стеатоз гепатоцитів; апоптоз/некроз гепатоцитів і запальні зміни печінки; фіброз; а також компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів.

2. З метою уніфікації та стандартизації оцінки виявлених змін, їх порівняння та екстраполяції на людину за результатами проведених досліджень розроблено стандартизований, уніфікований протокол гістологічного дослідження печінки щурів та критерії оцінки її морфологічних змін за категоріями: 1) якісна категорія – зміни відсутні («+») або зміни присутні («-»); 2) кількісна категорія – зміни, що можуть бути підраховані за допомогою морфометрії (наприклад, кількість вогнищ запальної інфільтрації на одиницю площі гістологічного зрізу при збільшенні об'єктиву $\times 20$); 3) напівкількісна категорія, що передбачає оцінку виявлених змін за системою балів, від «0» до «3».

3. Впровадження розробленої системи оцінки гістологічних змін печінки при моделюванні ЦД2Т і його корекції NSE дозволило провести порівняльну оцінку ефектів його дії при різних схемах (режимах) застосування в експерименті. Встановлено, що застосування NSE за схемою 2 (модель профілактичної дії) значимо ($p < 0,05$) у порівнянні із застосуванням NSE за схемою 1 (модель терапевтичної дії) зменшує прояви таких гістологічних змін, як порушення гістоструктури та кровообігу в печінці, дистрофічні зміни гепатоцитів (особливо стеатоз гепатоцитів), апоптоз/некроз гепатоцитів і запальні зміни, а також фіброз печінки. При цьому в печінці відмічали значиме збільшення гістологічних проявів компенсаторно-приспосувальних перебудов гепатоцитів, що було свідченням здатності печінки до її відновлення при моделюванні ЦД2Т.

Перспективи подальших розробок

Подальші дослідження мають бути спрямовані на удосконалення системи об'єктивної оцінки гістологічних змін печінки при моделюванні різних видів її патології, а також вивчення в експерименті, в рамках проведення доклінічних досліджень механізмів лікувальної та профілактичної дії NSE на різних стадіях розвитку аліментарного ожиріння, ІР, МС та ЖХПМП.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Джерела фінансування

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Розроблення морфологічних критеріїв ефективності профілактичного і терапевтичного впливу малополярних міnorних ліпідів за інсулінорезистентності та цукрового діабету 2 типу» (номер державної реєстрації 0123U100750).

Літературні джерела References

1. Federation, International Diabetes. IDF Diabetes Atlas 11th Edition - 2025. [Internet] Global Factsheet. Available from: <https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/>

2. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84. doi: 10.1002/hep.28431.

3. Golabi P, Paik JM, AlQahtani S, Younossi Y, Tuncer G, Younossi ZM. Burden of non-alcoholic fatty liver disease in Asia, the Middle East and North Africa: Data from Global Burden of Disease 2009-2019. *J Hepatol*. 2021;75(4):795-809. doi: 10.1016/j.jhep.2021.05.022.

4. Younossi ZM, Golabi P, Paik JM, Henry A, Van Dongen C, Henry L. The global epidemiology of

nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and non-alcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review. *Hepatology*. 2023;77(4):1335-47. doi: 10.1097/HEP.0000000000000004.

5. Chan WK, Chuah KH, Rajaram RB, Lim LL, Ratnasingam J, Vethakkan SR. Metabolic Dysfunction-Associated Steatotic Liver Disease (MASLD): A State-of-the-Art Review. *J Obes Metab Syndr*. 2023;32(3):197-213. doi: 10.7570/jomes23052.

6. Lazarus JV, Newsome PN, Francque SM, Kanwal F, Terrault NA, Rinella ME. Reply: A multi-society Delphi consensus statement on new fatty liver disease nomenclature. *Hepatology*. 2024;79(3):E93-E94. doi: 10.1097/HEP.0000000000000696.

7. Berdyshev AG, Kosiakova HV, Onopchenko OV, Panchuk RR, Stoika RS, Hula NM. N-

Stearoylethanolamine suppresses the pro-inflammatory cytokines production by inhibition of NF- κ B translocation. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2015;121(Pt A):91-6. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2015.05.001.

8. Onopchenko OV, Kosiakova GV, Oz M, Klimashevsky VM, Gula NM. N-stearoylethanolamine restores pancreas lipid composition in obesity-induced insulin resistant rats. Lipids. 2015;50(1):13-21. doi: 10.1007/s11745-014-3960-1.

9. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasbourg: Council of Europe. 1986;123:52. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>.

10. 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.

11. Закон України. Про захист тварин від жорсткого поводження [Law of Ukraine. On the protection of animals from cruelty]. Vidomosti Verkhovnoi Rady Ukrainy (VVR). 2006;27:230. Available from: <http://zakon1.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>.

12. Ejima C, Kuroda H, Ishizaki S. A novel diet-induced murine model of steatohepatitis with fibrosis for screening and evaluation of drug candidates for nonalcoholic steatohepatitis. Physiol Rep. 2016;4(21):e13016. doi: 10.14814/phy2.13016.

13. Zhong F, Zhou X, Xu J, Gao L. Rodent Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Digestion. 2020;101(5):522-35. doi: 10.1159/000501851.

14. Wang H, Shen H, Seo W, Hwang S. Experimental models of fatty liver diseases: Status and appraisal. Hepatol Commun. 2023;7(7):e00200. doi: 10.1097/HC9.0000000000000200.

15. Bagrij MM, Dibrova VF, editors. Metodyky morfologichnyx doslidzhen: monografiya. [Methods of morphological research: monograph] Vinnycya: Nova Knyga; 2016. 328 p. Ukrainian.

16. Brunt EM. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pros and Cons of Histologic Systems of Evaluation. Int J Mol Sci. 2016;17(1):97. doi: 10.3390/ijms17010097.

17. Dezső K, Paku S, Juhász M-M, Kóbori L, Nagy P. Evolutionary view of liver pathology. Evol Applicat. 2024;17:e70059. doi: 10.1111/eva.70059.

18. Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. J Hepatol. 2007;47(4):598-607. doi: 10.1016/j.jhep.2007.07.006.

19. Krishna M. Patterns of necrosis in liver disease. Clinical liver disease (Hoboken), 2017;10(2):53-6. doi: 10.1002/cld.653.

20. Liang W, Menke AL, Driessen A, Koek GH, Lindeman JH, Stoop R, et al. Establishment of a general NAFLD scoring system for rodent models and comparison to human liver pathology. PLoS One. 2014;9(12):e115922. doi: 10.1371/journal.pone.0115922.

21. Yin X, Guo X, Liu Z, Wang J. Advances in the Diagnosis and Treatment of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Int J Mol Sci. 2023;24(3):2844. doi: 10.3390/ijms24032844.

Луговський С.П., Квітницька-Рижова Т.Ю., Михальський С.А., Клименко П.П., Малишева С.П., Косякова Г.В. Морфологічна характеристика та оцінка гістологічних змін печінки щурів при моделюванні цукрового діабету 2 типу та його корекції N-стеароїлетаноламіном.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Проблема цукрового діабету, зокрема 2 типу (ЦД2Т), набуває глобального характеру в усьому світі, що визначає актуальність профілактики, діагностики та лікування одного з найбільш поширених його ускладнень – жирової хвороби печінки, пов'язаної з метаболічними порушеннями (ЖХПМП). Здатність печінки до зворотних змін при ЦД2Т визначає необхідність пошуку, розробки та впровадження в клінічну практику нових засобів фармакологічної корекції ЖХПМП. Це неможливо досягти без експериментальних доклінічних досліджень, де методи оцінки морфологічних змін печінки набувають пріоритетного значення. **Мета.** Морфологічна характеристика та розробка об'єктивного підходу для порівняльної оцінки та уніфікації гістологічних змін печінки щурів при моделюванні ЦД2Т та його корекції N-стеароїлетаноламіном (NSE). **Методи.** На щурах Sprague-Dawley (n=41), яких тривалий час (6 міс) утримували на високожировій дієті (ВЖД), відтворювали модель ЦД2Т. Його розвиток контролювали за показником вмісту глюкози в крові, а підтверджували за допомогою тесту на толерантність до глюкози. За результатами гістологічного дослідження печінки вивчали ефекти терапевтичної дії NSE (per os, в дозі 50 мг/кг, впродовж 2-тижнів після підтвердження розвитку ЦД2Т; схема 1), а також його профілактичної дії (per os, в дозі 50 мг/кг, 10 днів кожного місяця; схема 2). **Результати.** Морфологічні дослідження печінки щурів при моделюванні ЦД2Т виявили характерні для ЖХПМП зміни, що визначалися такими гістологічними патернами, як: порушення гістоструктури органу; порушення кровообігу в печінці; дистрофічні зміни гепатоцитів, насамперед стеатоз; некроз/апоптоз гепатоцитів і запальні зміни печінки; фіброз, а також компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів. На підставі отриманих результатів було розроблено стандартизований уніфікований протокол гістологічного дослідження печінки щурів при ЦД2Т та критерії оцінки виявлених змін за 3-ма оціночними категоріями з використанням системи балів, від «0» до «3». **Підсумок.** Впровадження розробленої системи оцінки гістологічних змін печінки при моделюванні ЦД2Т і його корекції NSE дозволило провести порівняльну оцінку ефектів дії NSE в експерименті при

різних схемах його застосування на щурах. Встановлено, що застосування NSE за схемою 2 у порівнянні зі схемою 1 значимо ($p < 0,05$) зменшує прояви таких гістологічних змін, як порушення гістоструктури органу та його кровообігу, дистрофічних змін гепатоцитів, насамперед стеатоз, некрозу/апоптозу та запальних змін печінки, а також фіброзу. Разом із цим вплив NSE значимо ($p < 0,05$) збільшує гістологічні прояви компенсаторно-приспосувальних перебудов гепатоцитів у вигляді їх гіпертрофії та збільшенням кількості 2-х ядерних клітин.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу; експериментальна модель; щури; гістологічні зміни печінки; N-стеароїлетаноламін; фармакологічна корекція.