

М.М. Шевчук

ДНП «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»
ДСУ «Львівське обласне бюро судово-медичної експертизи»
Львів, Україна

Надійшла: 20.09.2025
Прийнята: 15.10.2025

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2025.3.149-157>

УДК 616.36:611.13/.14:582.635.38]:616.155.32]-018-078.73-076-092.9

ГІСТОТОПОГРАФІЧНА ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЛІМФОМАКРОФАГАЛЬНОГО ІНФІЛЬТРАТУ В СТРОМАЛЬНО-СУДИННОМУ КОМПАРТМЕНТІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ЗА УМОВИ ДОВГОСТРОКОВОГО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВПЛИВУ ОЛІЇ КАНАБІДІОЛУ

Shevchuk M.M.  Histotopographic and immunohistochemical characteristics of the lympho-macrophage infiltrate in the stromal-vascular compartment of the rats liver under the conditions of long-term experimental exposure to cannabidiol oil.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University; Lviv Regional Bureau of Forensic Medical Examination, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Cannabidiol (CBD) is a non-psychotropic phytocannabinoid from the cannabis plant that is increasingly being used to treat various diseases. Analysis of immune system cells in liver studies with experimental use of CBD is important to establish its safety. **Objective:** to determinate of histotopographic and immunohistochemical features of lympho-macrophage infiltrate in the stromal-vascular compartment of rats liver under long-term experimental exposure to 10% CBD oil. **Methods.** Experimental studies were conducted on 40 sexually mature white non-linear male rats weighing 180-230 g, aged 5-7 months at the beginning of the experiment. Depending on the duration of CBD oil application, the animals of the experimental group were divided into 2 subgroups (series) of 14 rats in each series. Rats of the first series were orally dripped with 10% CBD oil (dose 10 mg/kg/day) once a day for 8 weeks, rats of the second series were also orally dripped with 10% CBD oil (dose 10 mg/kg/day) once a day for 10 weeks. The control group included 12 sexually mature white male rats, 6 individuals in each series of the experimental study. At the end of the experiment, after euthanasia, the livers removed for morphological examination. Histological, immunohistochemical studies were performed using monoclonal antibodies for macrophages and Kupffer cells CD68 (Clone KP1, Dako), T-lymphocytes CD3 (Clone SP7, Thermo Fisher scientific), B-lymphocytes CD20 (Clone Ab-1, Thermo Fisher scientific), NK-lymphocytes CD56 (Clone 123C3, Dako) according to the manufacturer's protocol with necessary controls. When comparing the indicators, the minimum level of significance was $p < 0.05$. **Results.** As a result of the study, the histotopographic and immunohistochemical features of the lympho-macrophage infiltrate in the stromal-vascular compartment of the liver of rats were established under the condition of long-term experimental exposure to 10% cannabidiol oil (at a dose of 10 mg/kg/day) for 8 and 10 weeks. The stromal component of the liver was found to contain an increased number of immune cells without destruction of the marginal plate and without spread of the infiltrate into the adjacent liver parenchyma, without signs of dystrophy or necrosis of adjacent hepatocytes. In both series of experiments, the cell population was diverse, but mononuclear cells of the lymphoid and macrophage series prevailed. The most numerous populations among the cells of the infiltrate were macrophages and Kupffer cells in both series of the experiment ($p < 0.05$). A significant predominance of the expression of the total population of T-lymphocytes in both series compared to the control ($p < 0.05$) and a significant predominance of the expression of T-lymphocytes over the expression of B-lymphocytes ($p < 0.05$) were established. Immunohistochemical typing using the CD56 marker allowed visualization of NK-cells located in sinusoids on endothelial cells or between them. **Conclusion.** A comprehensive study of lympho-macrophage infiltrate in the stromal-vascular compartment of rat livers under long-term experimental exposure to 10% CBD oil (at a dose of 10 mg/kg/day) for 8 and 10 weeks indicates the safety of CBD oil use.

Key words: Cannabidiol, CBD, rats, liver, microcirculation, histology, lympho-macrophage infiltrate, histology, immunohistochemistry.

Shevchuk MM. [Histotopographic and immunohistochemical characteristics of the lympho-macrophage infiltrate in the stromal-vascular compartment of the rats liver under the conditions of long-term experimental exposure to cannabidiol oil]. *Morphologia*. 2025;19(3):149-57. Ukrainian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2025.3.149-157>

 Shevchuk M.M. 0000-0001-7852-5980

© Dnipro State Medical University, «Morphologia»

Вступ

Проблема вивчення механізмів регуляції та корекції метаболізму в печінці залишається важливим напрямом сучасної експериментальної та клінічної медицини [1, 2]. Оскільки імунна система здійснює інтеграцію регуляторних процесів, то, враховуючи центральну роль печінки в організмі, стає зрозумілою увага дослідників до вивчення хронічного впливу на печінку різних екзогенних та ендогенних чинників, в тому числі безконтрольного вживання нутрієнтів, біологічно-активних добавок, медикаментозних лікарських препаратів, що може призводити до ураження печінки і порушення функцій всього організму [3]. Печінка регулює гомеостаз, включаючи антигенну сталість. При цьому активну участь беруть клітини імунної системи – лімфоцити, макрофаги, клітини Купфера, клітини Іто [3]. Будь-яке пошкодження тканини печінки або надмірний окислювальний стрес із пошкодженням клітинних структур запускає запальну відповідь з активацією резидентних макрофагів і лімфоцитів [4, 5]. При тому, лімфоцити вступають у тісний контакт з антигенами, представляючи їх ендотеліоцитам, клітинам Купфера і дендритним клітинам, а клітини Купфера можуть набувати різних фенотипів, які впливають на результати захворювань печінки [6, 7]. Клітини Купфера є резидентними макрофагами і становлять близько 20% всіх клітин печінки, відіграють важливу роль у її нормальній фізіології та гомеостазі, а також беруть участь в гострій і хронічній відповіді печінки на різні сполуки [4]. Вони локалізуються в судинному просторі синусоїдів, переважно в перипортальній ділянці, також проходять через простір Діссе, здійснюючи прямий контакт із гепатоцитами. Результатом може бути не тільки гостре пошкодження гепатоцитів, а й хронічне ураження тканини печінки [8]. Хронічний вплив на печінку різних речовин призводить до морфологічних, біохімічних та ультраструктурних змін [9].

Протягом останніх років набули популярності екстракти конопель, отримані з *Cannabis sativa* L., які вживаються перорально різними способами, включаючи ліки, добавки, продукти харчування, напої. Найпоширенішим канабіноїдом є канабідіол (КБД), який характеризується багатьма терапевтичними ефектами, включаючи знеболення, зниження тривожності, покращення сну. Важливо, що КБД не має психотропної дії та не викликає ейфорії. Ефективність КБД доведена у лікуванні рідкісних форм дитячої епілепсії Леннокса-Гасто і Драве [10, 11]. КБД також входить до складу лікарських препаратів для лікування розсіяного склерозу. Зростаючий суспільний інтерес до потенційної корисності КБД сприяв продажу нефармацевтичних продуктів КБД. Продажі КБД продовжують щорічно зростати у Сполучених Штатах та інших країнах [12]. Однак такі про-

блеми, як недоведені корисні ефекти та відсутність інструкцій щодо тестування та контролю якості продукції, викликають особливе занепокоєння щодо використання споживачами нефармацевтичного КБД [13]. Дослідження на тваринах і людях показали, що КБД може сприяти безлічі токсикологічних ефектів, включаючи зміну ваги органів, порушення розвитку плода, репродукції, функції печінки, артеріального тиску, функції імунної системи та генотоксичності [14-16]. Аномалії печінки були задокументовані в дослідженнях на людях, а ураження печінки, пов'язане з КБД, є однією з проблем американського управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів (FDA) щодо КБД [13]. Аналіз клітин імунної системи при дослідженні печінки за умови експериментального використання КБД є важливим для встановлення безпечності його використання.

Метою роботи було визначення гістотопографічних та імуногістохімічних особливостей лімфо-макрофагального інфільтрату в стромально-судинному компартменті печінки щурів за умови довгострокового експериментального впливу 10% олії канабідіолу.

Матеріали та методи

Експеримент проведений в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і на кафедрі патологічної анатомії та судової медицини. У якості об'єкта дослідження було використано 40 статевозрілих білих нелінійних щурів-самців масою 180-230 г, віком 5–7 місяців на початок експерименту. Залежно від тривалості застосування олії КБД тварин дослідної групи розподілили на 2 підгрупи (серії) по 14 особин у кожній серії. Щурам першої серії впродовж 8 тижнів один раз на добу перорально крапельно вводили 10% олію КБД (доза 10 мг/кг/добу), щурам другої серії впродовж 10 тижнів також один раз на добу перорально крапельно вводили 10% олію КБД (доза 10 мг/кг/добу). Дозу КБД визначали з використанням даних, де 10 мг/кг у щура відповідає ефективній та безпечній дозі КБД, що використовується у людей [17, 18].

До контрольної групи ввійшли 12 статевозрілих білих щурів-самців, по 6 особин у кожній серії. Впродовж проведення експерименту щоденно спостерігали за загальним станом щурів, поведінкою, поїданням корму. Усі щури мали стандартний раціон, призначений для лабораторних тварин, і вільний доступ до води. Масу тіла щурів щодня контролювали протягом усього експерименту. Утримання, догляд, годування, маркування, експеримент та евтаназію здійснювали з дотриманням вимог 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», етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01. 11. 2000 року (протокол №7 від 29 серпня 2022 року) [19, 20].

Наприкінці кожної серії експерименту після евтаназії усім досліджуваним тваринам проводили забір матеріалу для морфологічного дослідження. Матеріалом для дослідження була печінка щурів контрольної та дослідної груп обидвох серій. За загальноприйнятою методикою виготовляли парафінові блоки, гістологічні зрізи товщиною 5 ± 1 мкм, які фарбували гематоксиліном-еозином [21]. Крім загально гістологічних, нами були проведені імуногістохімічні дослідження печінки. Для цього з парафінових блоків виготовляли зрізи товщиною 5 ± 1 мкм, які наносили на високоадгезивні скельця «Super Frost», в подальшому висушували за стандартною методикою. Демаскування проводили у цитратному буфері, pH-6,0. Візуалізацію ІГХ реакції виконували за допомогою системи детекції DAKO EnVision+ System з хромогеном DAB (діамінобензидин) [22, 23]. Нами були використані моноклональні антитіла для макрофагів і клітин Купфера CD68 (Клон KP1, Dako), Т-лімфоцитів CD3 (Клон SP7, Thermo Fisher scientific), В-лімфоцитів CD20 (Клон Ab-1, Thermo Fisher scientific), NK-лімфоцитів CD56 (Клон 123C3, Dako). Дослідження проводили відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюями. Використано бібліосемантичний метод, методи системного аналізу й описової статистики. Під час порівняння показників мінімальний рівень значущості становив $p < 0,05$ [24].

Результати

При дослідженні тканини печінки щурів після довгострокового (8 і 10 тижнів) експериментального застосування 10% олії КБД встановлено, що макро- і мікроскопічна структура печінки у двох серіях не порушена. Макроскопічно тканина печінки еластична, темного коричнево-червоного кольору. На розрізі печінка однорідна, судини розвинені в межах варіантної норми. Мікроскопічно тканина представлена часточками, які є структурними і функціональними одиницями печінки. Печінкові часточки характеризувалися формою у вигляді шестиграних призм. Часточки не відокремлювалися прошарками сполучної тканини, тому уявними межами були портальні тракти, в яких проходили судини. Часточки складалися з печінкових балок з двох рядів гепатоцитів. Між балками гепатоцитів розташовувалися синусоїдні гемокапіляри від периферії до центральної вени, окремі з них були помірно дилатовані, повнокровні. Синусоїди печінки були вистелені ендотеліальними клітинами. Загалом гістоструктура класичної часточки печінки у щурів після 8 і 10 тижнів експериментального застосування олії КБД була подібною до печінки тварин контрольної групи, тобто часточкова і трабекулярна будова порушена

не була.

Мікроскопічно пухка сполучна тканина була слабо виражена і виявлялася тільки в ділянці портальних трактів, навколо судин і жовчних проток, представлена тоненькими колагеновими волокнами, що і зумовлювало нечітке контурування печінкових часточок. Звертала на себе увагу наявність клітинного інфільтрату у складі стромального компонента печінки. За складом клітинна популяція при мікроскопії виглядала різноманітною, проте в переважній більшості гістологічних препаратів переважали імунні клітини, які являли собою обидві ланки імунітету, і також макрофагальну систему. Для диференціювання інфільтрату нами було проведено імуногістохімічне дослідження і типовано основні клони імунних клітин. Частіше імунні клітини розташовувались в міжчасточковому стромальному компартменті печінки, периваскулярних просторах і в просвітах судин. Проте у контрольній групі нами також виявлялася мінімальна кількість імунних клітин. У дослідних серіях клітинний інфільтрат не проникав у паренхіму печінки, але, не зважаючи на це, нами детально досліджувалися гепатоцити пограничної пластинки печінкових часточок на предмет пошуку ознак дистрофічного їх ушкодження. Прицільне гістотопографічне дослідження межі між триадами печінки і паренхімою, пограничних пластинок не виявило пошкоджених гепатоцитів, які належать до пограничних пластинок. Гістотопографічними особливостями клітинної інфільтрації був ступінь вираженості від слабкого до помірного без ознак пограничної активності (рис. 1, 2).



Рис. 1. Печінка щура після 8 тижнів експериментального застосування олії КБД. Виражена гіперемія міжчасточкової вени триади печінки з агрегацією еритроцитів, наявність у складі стромального компонента печінки імунних клітин. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 100$.

Серед імунних клітин інфільтрату при імуногістохімічному дослідженні нами виявлено Т-лімфоцити, В-лімфоцити, макрофаги. Популяція Т-лімфоцитів експресувала рецептори до CD3, В-лімфоцитів – до CD20, макрофаги – до CD68 (рис. 3-5).

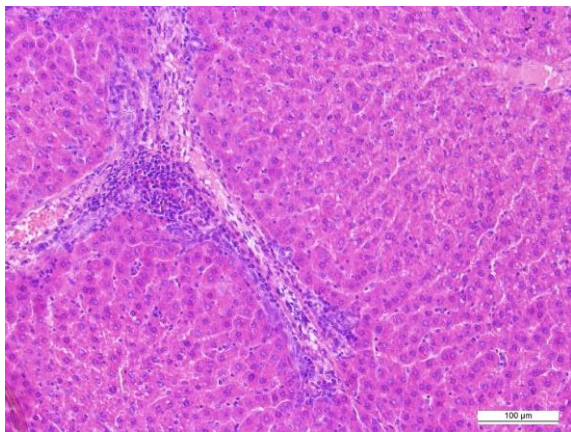


Рис. 2. Печінка щура після 10 тижнів експериментального застосування олії КБД. Тріада печінки. Підвищена кількість імунокомпетентних клітин у складі стромального компонента тріади без інтерфейсної активності. Забарвлення гематоксиліном та еозином, $\times 200$.

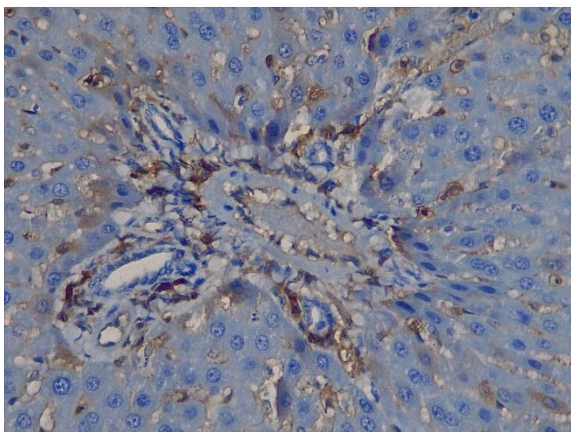


Рис. 3. Тканина печінки щура після 10 тижнів експериментального застосування олії КБД. Тріада печінки. Репрезентативні результати імуногістохімії для CD3. Наявність у складі стромального компонента печінки загальної популяції Т-лімфоцитів. Імуногістохімічне фарбування на CD3 (Клон SP7, Thermo Fisher scientific), $\times 400$.

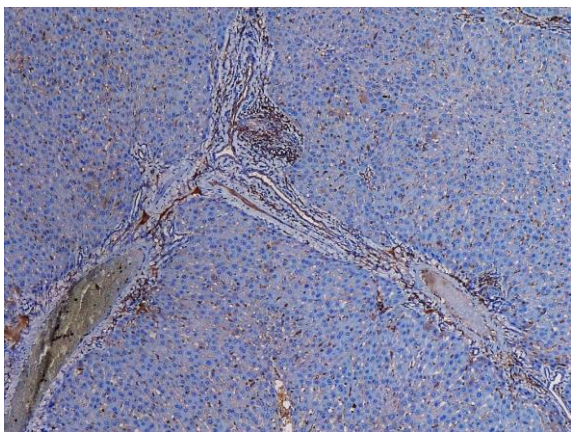


Рис. 4. Тканина печінки щура після 10 тижнів експериментального застосування олії КБД. Тріада печінки. Наявність у складі стромального компонента печінки загальної популяції Т-лімфоцитів. Імуногістохімічне фарбування на CD3 (Клон SP7, Thermo Fisher scientific), $\times 100$.

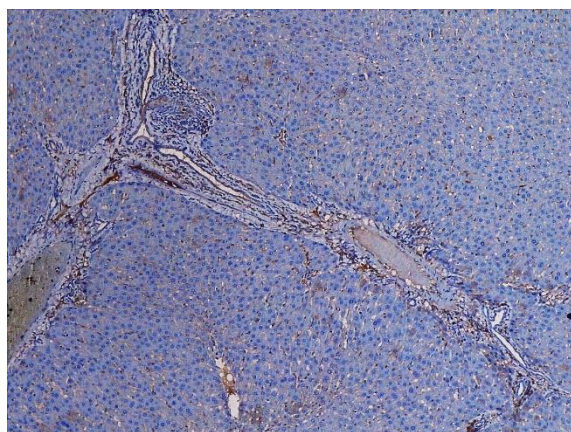


Рис. 5. Тканина печінки щура після 10 тижнів експериментального застосування олії КБД. Тріади печінки. Наявність у складі стромального компонента печінки популяції В-лімфоцитів. Імуногістохімічне фарбування на CD20 (Клон Ab-1, Thermo Fisher scientific), $\times 100$.

Після 10 тижнів експериментального застосування олії КБД при гістологічному дослідженні печінки судини тріад звичайної будови, наявність у складі стромального компонента печінки помірної кількості імунних клітин без руйнування пограничної пластинки та без поширення інфільтрату в прилеглу паренхіму печінки, ознак дистрофії або некрозу прилеглих гепатоцитів у таких ділянках не виявлено (рис. 2).

При статистичному аналізі було встановлено достовірне переважання імунокомпетентних клітин у дослідних серіях в порівнянні з контролем ($p < 0,05$), але при порівняльному аналізі між серіями достовірність встановлено не було ($p > 0,05$). При імуногістохімічному типуванні і статистичному аналізі нами встановлено достовірне переважання експресії загальної популяції Т-лімфоцитів в обидвох серіях в порівнянні з контролем ($p < 0,05$) і достовірне переважання експресії Т-лімфоцитів над експресією В-лімфоцитів ($p < 0,05$). Проте, переважаючою популяцією були макрофаги і клітини Купфера в обидвох серіях експерименту (рис. 6, 7).

Найвищі середні показники CD68-позитивних клітин у зоні тріади печінки можна обґрунтувати ключовою роллю клітин Купфера в імунній регуляції, захисті печінки від різних впливів, токсинів, шкідливих речовин, що можуть потрапити із кишківника у кровообіг. Серед CD68-позитивних клітин в інфільтраті, ймовірно були і клітини Купфера, і похідні циркулюючих моноцитів.

Так, у серії експериментального дослідження після 8 тижнів застосування олії КБД ми звернули увагу на гіпертрофію клітин Купфера не тільки навколо порталних трактів, але й у проміжній, і центральній зонах часточки. Гіперплазія клітин Купфера також була помітною у всіх випадках серії експериментального дослідження, в той час, як у контрольній групі клітини Купфера локалізувалися переважно навколо порталних трактів, а в

проміжній і центральній частині часточки їх значно менше

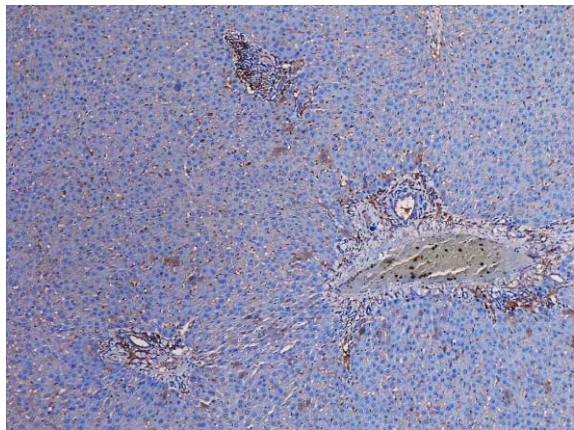


Рис. 6. Тканина печінки щура після 8 тижнів експериментального застосування олії КБД. Тріади печінки. Наявність у складі стромального компонента печінки серед клітин інфільтрату макрофагів. Імуногістохімічне фарбування на CD68 (Клон KP1, Dako), $\times 100$.

Відмінності в експресії CD68 не були статис-

тично значущими в обидвох серіях, проте достовірно відрізнялися від контрольної групи ($p < 0,001$). В обидвох експериментальних серіях довгострокового впливу олії КБД найвищий середній показник клітин Купфера на площі $0,01 \text{ мм}^2$ ($100 \text{ мкм} \times 100 \text{ мкм}$) був визначений у зоні триади печінки і становив $5,65 \pm 0,15$ (8 тижнів) і $6,12 \pm 0,13$ клітин (10 тижнів) та достовірно ($p < 0,001$) переважав відповідний показник контрольної групи ($3,88 \pm 0,10$ клітин). Також середній показник клітин Купфера в обидвох серіях у зоні триади печінки при порівняльному аналізі переважав показник у проміжній зоні $4,77 \pm 0,13$ (8 тижнів) і $5,22 \pm 0,06$ клітин (10 тижнів) і навколо центральної вени $2,75 \pm 0,15$ (8 тижнів) і $3,42 \pm 0,13$ клітин (10 тижнів) відповідно.

Як і в зоні триади, у проміжній зоні часточки і навколо центральної вени середні показники клітин CD68 достовірно перевищували відповідні показники у контрольній, що пояснюється гіперплазією спеціалізованих макрофагів і важливим значенням для імунної функції печінки (рис. 7).

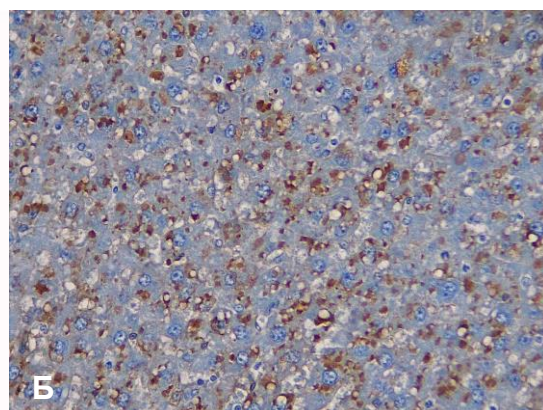
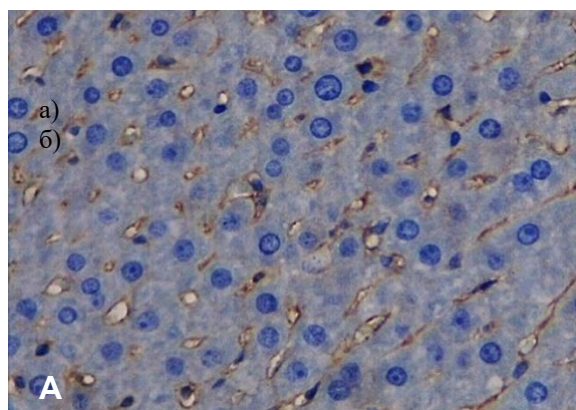


Рис. 7. Тканина печінки щура в контролі і після 10 тижнів експериментального застосування олії КБД: а) контроль; б) 10 тижнів експерименту; гіперплазія і гіпертрофія клітин Купфера в синусоїдах проміжної зони печінкової часточки. ІГХ типкування клітин Купфера за допомогою маркера CD68. а) $\times 600$, б) $\times 200$.

Крім ендотеліоцитів і клітин Купфера, з боку просвіту синусоїдів візуалізувалися НК-клітини і їх різновиди – специфічні Pit-клітини, відомі як ямкові клітини, які виконують функцію натуральних кілерів печінки. Pit-клітини є важливим компонентом вродженої імунної системи печінки, взаємодіють з клітинами Купфера і гепатоцитами. Мікроскопічно були представлені великими зернистими лімфоцитами, розташовувалися в синусоїдах на ендотеліальних клітинах або між ними. Імуногістохімічне типкування за допомогою маркера CD56 дозволило візуалізувати НК-клітин (рис. 8). В кількісному співвідношенні CD56 позитивних клітин було найменше порівняно з іншими типованими клітинами ($p < 0,05$).

Таким чином, на підставі проведеного дослідження визначено гістотопографічні та імуногі-

стохімічні особливості лімфо-макрофагального інфільтрату в стромально-судинному компартменті печінки щурів за умови довгострокового експериментального впливу 10% олії канабідіолу впродовж 8 і 10 тижнів. В обидвох серіях експерименту клітинна популяція була різноманітною, проте переважали мононуклеарні клітини лімфоїдного і макрофагального ряду. Частіше імунні клітини розташовувались в міжчасточковому стромальному компартменті печінки, периваскулярних просторах і в просвітах судин.

У дослідних серіях клітинний інфільтрат не проникав у паренхіму печінки, проте нами детально досліджувалися гепатоцити пограничної пластинки печінкових часточок на предмет пошуку ознак дистрофічного їх ушкодження. Прицільне гістотопографічне дослідження межі між

тріадами печінки і паренхімою, пограничних пластинок не виявило пошкодження гепатоцитів.

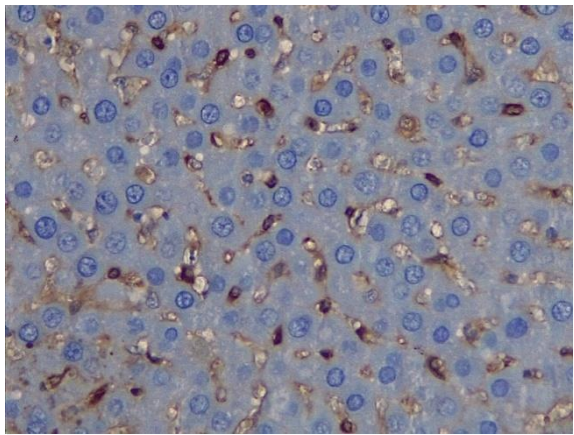


Рис. 8. Тканина печінки щура після 8 тижнів експериментального застосування олії КБД. НК-клітини з високою експресією CD56 в синусоїдах проміжної зони печінкової часточки. ІГХ типування НК-клітин за допомогою маркера CD56, $\times 400$.

Гістотопографічними особливостями клітинної інфільтрації був різний ступінь вираженості без ознак пограничної активності. Після 10 тижнів експериментального застосування олії КБД при гістологічному дослідженні печінки судини тріад звичайної будови, наявність у складі стромального компонента печінки збільшеної кількості імунних клітин без руйнування пограничної пластинки та без поширення інфільтрату в прилеглу паренхіму печінки, ознак дистрофії або некрозу прилеглих гепатоцитів у таких ділянках не виявлено. При статистичному аналізі було встановлено достовірне переважання імункомпетентних клітин у дослідних серіях в порівнянні з контролем ($p < 0,05$), але при порівняльному аналізі між серіями достовірність встановлено не було ($p > 0,05$). При імуногістохімічному типуванні і статистичному аналізі нами встановлено достовірне переважання експресії загальної популяції Т-лімфоцитів в обидвох серіях в порівнянні з контролем ($p < 0,05$) і достовірне переважання експресії Т-лімфоцитів над експресією В-лімфоцитів ($p < 0,05$). Найчисленнішою популяцією були макрофаги і клітини Купфера в обидвох серіях експерименту. Імуногістохімічне типування за допомогою маркера CD56 дозволило візуалізувати НК-клітини, які розташовувалися в синусоїдах на ендотеліальних клітинах або між ними. Таким чином, отримані результати вказують на безпеку 10% олії КБД у дозі 10 мг/кг/день впродовж 8 і 10 тижнів застосування.

Дискусія

КБД – непсихотропний фітоканабіноїд з рослини конопель, все частіше використовується для лікування різних захворювань [25]. Клінічні випробування КБД зосереджені на ефективності

препарату Епідіолекс, який схвалений американським управлінням з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів (Food and Drug Administration), що відповідає за регуляцію та нагляд над безпекою і ефективністю харчових продуктів, ліків, дієтичних добавок, косметики, медичних приладів, ветеринарної продукції та інших продуктів препарату [26]. Епідіолекс призначається для лікування судом, асоційованих з синдромами Леннокса-Гасто (Lennox-Gastaut) з частими нападами у дитячому віці і Драве (Dravet) з важкою міоклонічною епілепсією дитячого віку у пацієнтів від 2 років життя [10, 11].

Крім фармацевтичного препарату Епідіолекс, КБД доступний у вигляді олії (КБД олія). КБД став перспективним терапевтичним засобом завдяки своїм різноманітним фармакологічним властивостям, включаючи потужний протизапальний, нейропротекторний та імуномодуючий ефект. КБД модулює імунні реакції, включаючи регуляцію активності Т-клітин, індукцію апоптозу макрофагів, пригнічення прозапальних цитокінів та модуляцію сигнальних шляхів, що беруть участь у запаленні та імунному гомеостазі. Доклінічні та клінічні дослідження демонструють його ефективність у лікуванні аутоімунних захворювань, таких як діабет 1 типу, розсіяний склероз, ревматоїдний артрит та запальні захворювання кишечника, а також його потенціал у лікуванні нейропатичного болю та раку. За даними К. Mujaheed і співавтор. (2025), нещодавні досягнення в системах доставки на основі нанотехнологій ще більше посилили терапевтичний потенціал КБД, покращивши його розчинність, біодоступність та цілеспрямовану доставку, що дозволяє використовувати інноваційні підходи до загоєння ран, лікування запалення та лікування раку. Однак, такі проблеми, як мінливість імунних реакцій, обмежені дані про довгострокову безпеку та потенційна лікарська взаємодія, залишаються невирішеними [27].

Крім того, КБД може спричиняти дозозалежну гепатотоксичність. Відомо, що одночасне застосування КБД та інших препаратів, включаючи лефлуномід, ломітапід, міпомерсен, пексидартиніб, терифлуномід та вальпроат, спричиняє пошкодження печінки. Згідно з рекомендаціями Американського товариства клінічної онкології (ASCO), гепатотоксичність спостерігається переважно при пероральному застосуванні КБД у добових дозах 300 мг або більше [28] Припинення прийому КБД або припинення одночасного застосування зменшує це підвищення. У пацієнтів з помірним або тяжким ураженням печінки рекомендується повільне титрування та корекція дози [29, 30]. У нашому експериментальному дослідженні застосовували КБД у дозі 10 мг/кг згідно даних, в яких доза 10 мг/кг у щура відповідає ефективній та безпечній дозі КБД, що використовується у лю-

дей [17, 18]. Після довгострокового експериментального застосування олії КБД (доза 10 мг/кг) при гістологічному та імуногістохімічному дослідженні нами встановлено наявність у складі стромального компонента печінки зпомірної кількості імунних клітин без руйнування пограничної пластинки та без поширення інфільтрату в прилеглу паренхіму печінки, ознак дистрофії або некрозу прилеглих гепатоцитів у таких ділянках виявлено не було.

Наші 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 у тварин, які хронічно отримують КБД [31].

Висновки

У результаті проведеного дослідження встановлені гістотопографічні та імуногістохімічні особливості лімфо-макрофагального інфільтрату в стромально-судинному компартменті печінки щурів за умови довгострокового експериментального впливу 10% олії канабідіолу (в дозі 10

мг/кг/день) впродовж 8 і 10 тижнів.

У складі стромального компонента печінки встановлено наявність помірної кількості імунних клітин без руйнування пограничної пластинки та без поширення інфільтрату в прилеглу паренхіму печінки, без ознак дистрофії або некрозу прилеглих гепатоцитів.

В обидвох серіях експерименту клітинна популяція була різноманітною, проте переважали мононуклеарні клітини лімфоїдного і макрофагального ряду. Найчисельнішою популяцією серед клітин інфільтрату були макрофаги і клітини Купфера в обидвох серіях експерименту ($p < 0,05$). Встановлено достовірне переважання експресії загальної популяції Т-лімфоцитів в обидвох серіях в порівнянні з контролем ($p < 0,05$) і достовірне переважання експресії Т-лімфоцитів над експресією В-лімфоцитів ($p < 0,05$). Імуногістохімічне типування за допомогою маркера CD56 дозволило візуалізувати NK-клітини, які розташовувалися в синусоїдах на ендотеліальних клітинах або між ними.

Перспективи подальших досліджень

Перспективним є порівняльний аналіз клітинного інфільтрату в стромально-судинному компартменті печінки щурів за умови короткострокового впливу 10% олії КБД (в дозі 10 мг/кг/день) впродовж 2 і 4 тижнів експерименту і довгострокового впливу.

Інформація про конфлікт інтересів

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

Літературні джерела References

1. Alamri ZZ. The role of liver in metabolism: an updated review with physiological emphasis. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*. 2018;7(11):2271–6. doi: 10.18203/2319-2003.ijbcp20184211.
2. Daniels LJ, Kay D, Marjot T, Hodson L, Ray DW. Circadian regulation of liver metabolism: experimental approaches in human, rodent, and cellular models. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2023;325(5):C1158-C1177. doi: 10.1152/ajpcell.00551.2022.
3. Allameh A, Niayesh-Mehr R, Aliarab A, Sebastiani G, Pantopoulos K. Oxidative Stress in Liver Pathophysiology and Disease. *Antioxidants*. 2023;12(9):1653. doi: 10.3390/antiox12091653.
4. Woltman AM, Boonstra A, Naito M, Leenen PJM. Kupffer Cells in Health and Disease. In: Biswas S.K., Mantovani A., editors. *Macrophages: Biology and Role in the Pathology of Diseases*. Springer; Cham, Switzerland; 2014:217–247. https://books.google.com.ua/books?id=g_RWBQAAQBAJ&printsec=copyright&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
5. Liaskou E, Wilson DV, Oo YH. Innate immune cells in liver inflammation. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:949157. doi: 10.1155/2012/949157.
6. Williams M., Scott C.L. Liver macrophages in health and disease. *Immunity*. 2022;55:1515–29. doi: 10.1016/j.immuni.2022.08.002.
7. Gracia-Sancho J, Caparros E, Fernandez-Iglesias A, Frances R. Role of liver sinusoidal endothelial cells in liver diseases. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol*. 2021;18:411–31. doi: 10.1038/s41575-020-00411-3.
8. Girish V, Mousa OY, Syed K. Acute on Chronic Liver Failure. [Updated 2025 Jun 2]. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499902/>
9. Malhi H, Gores GJ. Cellular and molecular mechanisms of liver injury. *Gastroenterology*. 2008;134(6):1641-54. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.002.

10. Asadi-Pooya AA. Lennox-Gastaut syndrome: a comprehensive review. *Neurol Sci.* 2018;39(3): 403-14. doi: 10.1007/s10072-017-3188-y.
11. He Z, Li Y, Zhao X, Li B. Dravet syndrome: Advances in etiology, clinical presentation, and treatment. *Epilepsy Res.* 2022;188:107041. doi: 10.1016/j.eplesyres.2022.107041.
12. Smith T, Majid F, Eckl V, Reynolds CM. Herbal supplement sales in US increase by record-breaking 17.3% in 2020. *HerbalGram.* 2021;131:52–65. <https://cimasci.com/wp-content/uploads/2021/09/Herbal-Supplement-Sales-in-US-Increase-by-Record-Breaking-17.3-in-2020.pdf>.
13. FDA. What You Need to Know (And What We're Working to Find Out) About Products Containing Cannabis or Cannabis-derived Compounds, Including CBD. <https://www.fda.gov/consumers/consumer-updates/what-you-need-know-and-what-were-working-find-out-about-products-containing-cannabis-or-cannabis>. 2020.
14. Huestis MA, Solimini R, Pichini S, et al. Cannabidiol Adverse Effects and Toxicity. *Curr Neuropsychopharmacol.* 2019;17:974–89. doi: 10.2174/1570159X17666190603171901.
15. Gingrich J, Choudhuri S, Cournoyer P, Downey J, Muldoon Jacobs K. Review of the oral toxicity of cannabidiol (CBD). *Food Chem Toxicol.* 2023;176:113799. doi: 10.1016/j.fct.2023.113799.
16. Madeo G, Kapoor A, Giorgetti R, Busardo FP, Carlier J. Update on Cannabidiol Clinical Toxicity and Adverse Effects: a Systematic Review. *Curr Neuropsychopharmacol.* 2023. doi: 10.2174/1570159X21666230322143401.
17. Jadoon KA, Tan GD, O'Sullivan SE. A single dose of cannabidiol reduces blood pressure in healthy volunteers in a randomized crossover study. *JCI Insight.* 2017;2(12):e93760. doi: 10.1172/jci.insight.93760.
18. Kicman A, Toczek M. The effects of Cannabidiol, a non-intoxicating compound of Cannabis, on the Cardiovascular System in Health and Disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(18):6740. doi: 10.3390/ijms21186740.
19. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes. Strasburg: Council of Europe. 1986;123:52. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>.
20. 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.
21. Suvarna SK, Layton C, Bancroft GD. (Eds.). *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*, 8th Edition. Elsevier; 2019. 558 p. doi: 10.1016/B978-0-7020-6864-5.00008-6.
22. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An Introduction to the Performance of Immunohistochemistry. *Methods Mol Biol.* 2019;1897:289–98. doi: 10.1007/978-1-4939-8935-5_25.
23. Nguyen T. *Immunohistochemistry: A Technical Guide to Current Practices*. Cambridge: Cambridge University Press; 2022. 272 p.
24. Hruziova TS, Lekhan VM, Ohniev VA, Halienko LI, Kriachkova LV, Palamar BI, et al. [Biostatistics]. Vinnytsia: New Book; 2020. 384 p. ISBN 978-966-382-857-2 [in Ukrainian].
25. Silmore LH, Willmer AR, Capparelli EV, Rosania GR. Food effects on the formulation, dosing, and administration of cannabidiol (CBD) in humans: A systematic review of clinical studies. *Pharmacotherapy.* 2021;41(4):405-20. doi: 10.1002/phar.2512.
26. Epidiolex® (cannabidiol) oral solution – access data [fda.gov](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/210365s015lbl.pdf). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/210365s015lbl.pdf.
27. Mujahid K, Rasheed MS, Sabir A, Nam J, Ramzan T, Ashraf W, Imran I. Cannabidiol as an immune modulator: A comprehensive review. *Saudi Pharm J.* 2025;33(3):11. doi: 10.1007/s44446-025-00005-7.
28. Braun IM, Bohlke K, Abrams DI, Anderson H, Balneaves LG, Bar-Sela G, Bowles DW, Chai PR, Damani A, Gupta A, Hallmeyer S, Subbiah IM, Twelves C, Wallace MS, Roeland EJ. Cannabis and Cannabinoids in Adults With Cancer: ASCO Guideline. *J Clin Oncol.* 2024;42(13):1575-93. doi: 10.1200/JCO.23.02596.
29. Chen JW, Borgelt LM, Blackmer AB. Cannabidiol: A New Hope for Patients With Dravet or Lennox-Gastaut Syndromes. *Ann Pharmacother.* 2019;53(6):603-11. doi: 10.1177/1060028018822124.
30. Brown JD, Winterstein AG. Potential Adverse Drug Events and Drug-Drug Interactions with Medical and Consumer Cannabidiol (CBD) Use. *J Clin Med.* 2019;8(7):989. doi: 10.3390/jcm8070989.
31. Corsato Alvarenga I, Wilson KM, McGrath S. Tolerability of long-term cannabidiol supplementation to healthy adult dogs. *J Vet Intern Med.* 2024;38(1):326-35. doi: 10.1111/jvim.16949.

Шевчук М.М. Гістотопографічна та імуногістохімічна характеристика лімфо-макрофагального інфільтрату в стромально-судинному компартменті печінки щурів за умови довгострокового експериментального впливу олії канабідіолу.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Канабідіол (КБД) – непсихотропний фітоканабіноїд з рослини конопель, все частіше використовується для лікування різних захворювань. Аналіз клітин імунної системи при дослідженні печінки за умови експериментального використання КБД є важливим для встановлення безпеч-

ності його використання. **Мета.** Визначення гістотопографічних та імуногістохімічних особливостей лімфо-макрофагального інфільтрату в стромально-судинному компартменті печінки щурів за умови довгострокового експериментального впливу 10% олії КБД. **Методи.** Експериментальні дослідження проведені на 40 статевозрілих білих нелінійних щурів-самців масою 180-230 г, віком 5–7 місяців на початок експерименту. Залежно від тривалості застосування олії КБД тварин дослідної групи розподілили на 2 підгрупи (серії) по 14 особин у кожній серії. Щурам першої серії впродовж 8 тижнів один раз на добу перорально крапельно вводили 10% олію КБД (доза 10 мг/кг/добу), щурам другої серії впродовж 10 тижнів також один раз на добу перорально крапельно вводили 10% олію КБД (доза 10 мг/кг/добу). До контрольної групи ввійшли 12 статевозрілих білих щурів-самців, по 6 особин у кожній серії експериментального дослідження. Наприкінці експерименту після евтаназії проводили забір печінки для морфологічного дослідження. Здійснили гістологічне, імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл для макрофагів і клітин Купфера CD68 (Клон KP1, Dako), Т-лімфоцитів CD3 (Клон SP7, Thermo Fisher scientific), В-лімфоцитів CD20 (Клон Ab-1, Thermo Fisher scientific), NK-лімфоцитів CD56 (Клон 123C3, Dako) відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюями. Під час порівняння показників мінімальний рівень значущості становив $p < 0,05$. **Результати.** У результаті проведеного дослідження визначені гістотопографічні та імуногістохімічні особливості лімфо-макрофагального інфільтрату в стромально-судинному компартменті печінки щурів за умови довгострокового експериментального впливу 10% олії канабідіолу (в дозі 10 мг/кг/день) впродовж 8 і 10 тижнів. У складі стромального компонента печінки встановлено наявність збільшеної кількості імунних клітин без руйнування пограничної пластинки та без поширення інфільтрату в прилеглу паренхіму печінки, без ознак дистрофії або некрозу прилеглих гепатоцитів. В обидвох серіях експерименту клітинна популяція була різноманітною, проте переважали мононуклеарні клітини лімфоїдного і макрофагального ряду. Найчисельнішою популяцією серед клітин інфільтрату були макрофаги і клітини Купфера в обидвох серіях експерименту ($p < 0,05$). Встановлено достовірне переважання експресії загальної популяції Т-лімфоцитів в обидвох серіях в порівнянні з контролем ($p < 0,05$) і достовірне переважання експресії Т-лімфоцитів над експресією В-лімфоцитів ($p < 0,05$). Імуногістохімічне типування за допомогою маркера CD56 дозволило візуалізувати NK-клітини, які розташовувалися в синусоїдах на ендотеліальних клітинах або між ними. **Підсумок.** Комплексне дослідження лімфо-макрофагального інфільтрату в стромально-судинному компартменті печінки щурів за умови довгострокового експериментального впливу 10% олії КБД (в дозі 10 мг/кг/день) впродовж 8 і 10 тижнів вказує про безпечність застосування.

Ключові слова: Канабідіол, КБД, CBD, щури, печінка, лімфо-макрофагальний інфільтрат, гістологія, імуногістохімія.