

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕЧІНКИ І СТАН МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОЛІЇ КАНАБІДІОЛУ

Шевчук М.М. <https://orcid.org/0000-0001-7852-5980>

Волос Л.І. <https://orcid.org/0000-0002-1733-589X>

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, Україна

Liliya.volos@gmail.com

Актуальність. Канабідіол (КБД, CBD) є природним не психоактивним фітоканабіноїдом, міститься в коноплях звичайних. Спостерігається значний ріст використання КБД в останні роки з потенційними терапевтичними ефектами, проте більшість з яких була задокументована під час клінічних випробувань, а деяких із сумнівними результатами. Особливе занепокоєння викликає можливий ризик гепатотоксичності, спричиненої КБД, тому необхідні додаткові експериментальні дослідження для вивчення хронічного впливу низьких доз КБД, особливостей патогістологічних змін печінки, з акцентом на характер та вираженість можливих пошкоджень судин печінки, особливостей гемодинаміки, зокрема на рівні мікроциркуляторного русла.

Ціль: дослідити гістологічні особливості змін печінки і стан мікроциркуляторного русла після 4 тижнів експериментального застосування олії канабідіолу.

Матеріали та методи. Дослідження проведені на білих щурах-самцях, масою 180-230 г, віком 5-7 місяців на початок експерименту. Тварини знаходились у стандартних умовах віварію, основна група складала 18 особин, яким упродовж 4 тижнів щоденно до основного корму додавали 5 крапель (3 мг) 10% олії канабідіолу, 6 тварин – інтактна група. Всі експерименти проводились згідно міжнародних правил гуманного ставлення до тварин. Забір біологічного матеріалу проводився після евтаназії з використанням диетил ефіру. Проводили гістологічне та імуногістохімічне дослідження печінки та судин з метою визначення впливу 10% олії канабідіолу.

Результати. На підставі проведеного гістологічного та імуногістохімічного дослідження встановлено, що застосування впродовж 4 тижнів в якості харчової добавки 10% олії КБД не викликало гострих чи хронічних ушкоджень печінки. Порушень часточково-балкової структури не виявлено, гістологічна структура та морфометричні показники компонентів судинного русла, зокрема артеріальних судин, портальних, венозних і лімфатичних судин, синусоїдів, а також жовчевих проток і клітин сполучнотканинної строми печінки не відрізнялась від контрольної групи.

Висновки. Враховуючи відсутність негативного впливу впродовж 4 тижнів 10% олії КБД на паренхіматозний та стромальний компоненти печінки, існує велика потреба в додаткових дослідженнях інших часових проміжків, щоб визначити можливий несприятливий вплив на печінку, оцінити фактори ризику та результати для можливого визначення оптимального застосування лікарських засобів для людини.

Ключові слова: Cannabis sativa, канабідіол, печінка, судини, патогістологія, імуногістохімія.

Актуальність. Cannabis sativa (C. sativa, канабіс, коноплі звичайні, марихуана) відноситься до сімейства коноплевих (Cannabaceae), рослина дуже багата на фітохімічні речовини, містить понад 560 відомих сполук, і в літературі описано понад 120 канабіноїдів, які мають подібну хімічну структуру [1]. Найвідомішими з них є психотропний Δ9-тетрагідроканабінол (Δ9-ТГК, Δ9-ТНС) та не психоактивний канабідіол (КБД, CBD). Частка канабідіолу в рос-

линному екстракті є великою і становить до 40 % [2].

Проведені дослідження демонструють значний ріст використання КБД в останні роки [3]. Сприяє такій популярності поширена думка, що КБД є набагато безпечнішим порівняно з його аналогом Δ9-ТГК [3-5]. Незважаючи на те, що результати підтверджують більш сприятливий профіль безпеки для КБД порівняно з ТГК, залишається необхідність досліджува-

ти потенційну шкоду КБД [3, 6, 7]. За даними авторів, значне підвищення рівня печінкових ферментів є поширеною побічною реакцією на ліки і пов'язане із застосуванням КБД у помірних і високих дозах, особливо при лікуванні рідкісних і важких типів епілепсії у дітей, різних видів судом, спастичності, пов'язаної з розсіяним склерозом, при гіперактивності, агресії та аутизму [8, 9, 10]. Таким чином, КБД створює ризик для пошкодження печінки. На нашу думку, необхідні додаткові експериментальні дослідження для вивчення токсичності хронічного впливу низьких доз КБД, особливостей патогістологічних змін печінки, з акцентом на характер та вираженість можливих пошкоджень судин печінки, особливостей гемодинаміки, зокрема на рівні мікроциркуляторного русла. Такі дослідження нададуть важливу інформацію щодо безпеки чи потенційної шкоди для прийняття регуляторних рішень.

Ціль: дослідити гістологічні особливості змін печінки і стан мікроциркуляторного русла після 4 тижнів експериментального застосування олії канабідіолу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для визначення впливу олії канабідіолу на печінку і стан мікрогемодинаміки нами проведені експериментальні дослідження із використанням 10% олії КБД. В Україні КБД є легальною речовиною, оскільки, як речовина, він виключений з переліку наркотичних та психотропних речовин згідно Постанови КМУ від 06.05.2000 № 770 та Постанови КМУ від 07 квітня 2021 року № 324 [11]. Експерименти проведені з дотриманням морально-етичних норм 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».

Експериментальні дослідження виконані на 24 статевозрілих білих щурах-самцях, масою 180-230 г, віком 5-7 місяців на початок експерименту. Всі тварини знаходились в умовах

віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Щури містилися у приміщенні з температурним режимом $20 \pm 1^\circ\text{C}$ і припливною вентиляцією, в окремих спеціальних клітках, при звичайному світловому режимі, мали стандартний раціон, призначений для лабораторних тварин, і вільний доступ до корму та води – *ad libitum*. Протягом експерименту велися щоденні спостереження за зовнішнім виглядом, поведінкою, поїданням корму та загальним станом тварин. Основна група складала 18 щурів, яким впродовж 4 тижнів 1 раз на добу в однаковий проміжок часу до основного корму додавали 5 крапель (3 мг) 10% олії канабідіолу. Контрольна група складала 6 статевозрілих білих щурів-самців, які були забезпечені водою і кормом без будь-якого обмеження. Збір біологічного матеріалу проводився після евтаназії з використанням диетил ефіру. Зразки печінки фіксували в 10% забуференому розчині формаліну. Далі згідно протоколу проводили зневоднення у спиртах зростаючої концентрації, заливали в парафін за стандартною методикою, виготовляли гістологічні зрізи завтовшки 5 ± 1 мкм, які потім наносили на предметні спеціальні адгезивні скельця, проводили депарафінізацію і забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою. Імуногістохімічні дослідження проводили на гістологічних зрізах із парафінових блоків, призначених для стандартного морфологічного дослідження. У роботі використовувалися моноклональні антитіла для макрофагів CD68 (Клон KP1, DAKO), ендотелію судин CD31 (Клон JC70A, Thermo Fisher scientific). Дослідження проводили відповідно до протоколу виробника з необхідними контролюми. Візуалізацію ІГХ реакції виконували за допомогою системи детекції DAKO EnVision+System з хромогеном діамінобензидином. Мікрофотографування здійснювали за допомогою світлооптичного мікроскопу Leica DM 2500 (Leica Microsystems GmbH, Німеччина) з цифровою камерою Leica DFC450 C (Німеччина) та програмним забезпеченням Leica Application Suit Version 3.8. Нами проведено морфометричне дослідження центральних вен, судин портального тракту і синусоїдів.

Для цього з гістологічних препаратів зроблено серію мікрофотографій при різному збільшенні мікроскопа. Мікрофотографії при збільшенні $\times 400$ використовували для проведення замірів внутрішнього діаметра судин і товщини стінки, а при збільшенні $\times 1000$ проводили заміри діаметра синусоїдів. Заміри розмірів просвіту центральних вен (поздовжній, поперечний, діагональний), товщину стінки, діаметр

синусоїдів у різних полях зору проводили за допомогою програмного забезпечення Aperio ImageScope v12.3.3 (Leica biosystems, Wetzlar, Німеччина). Отримані результати обробляли методом варіаційної статистики з використанням програми «Microsoft Excel». Оцінку вірогідності статистичних досліджень проводили за допомогою t-критерію Стюдента ($p < 0,05$).

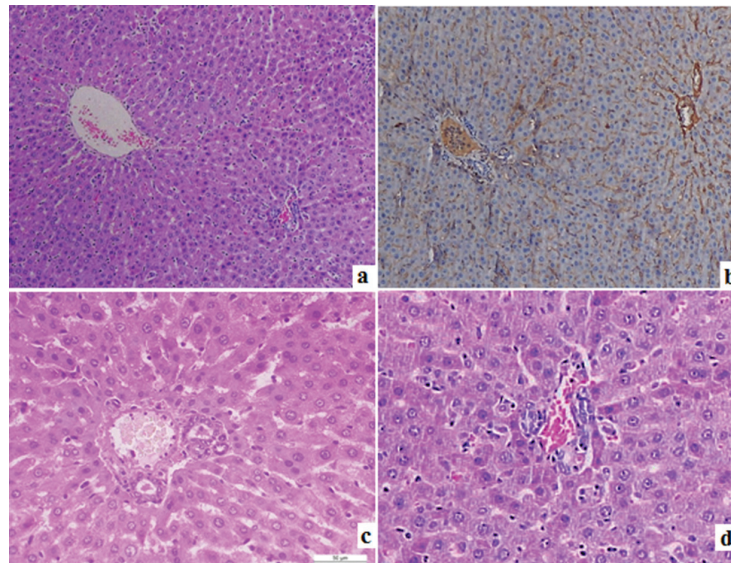


Рис.1. Будова печінки після 4-х тижнів застосування олії канабідіолу в експерименті. Структура печінкових часточок не порушена (а, b); портальні тракти: помірне набухання і повнокров'я венул в триадах, випинання ендотелію у просвіт (с), перипортальні гепатоцити менші за розмірами з гіперхромними ядрами (d). Забарвлення гематоксиліном та еозином (а, с, d); ІГХ типування ендотелію за допомогою маркера CD31 (b). Збільшення а, b $\times 100$; c, d $\times 400$

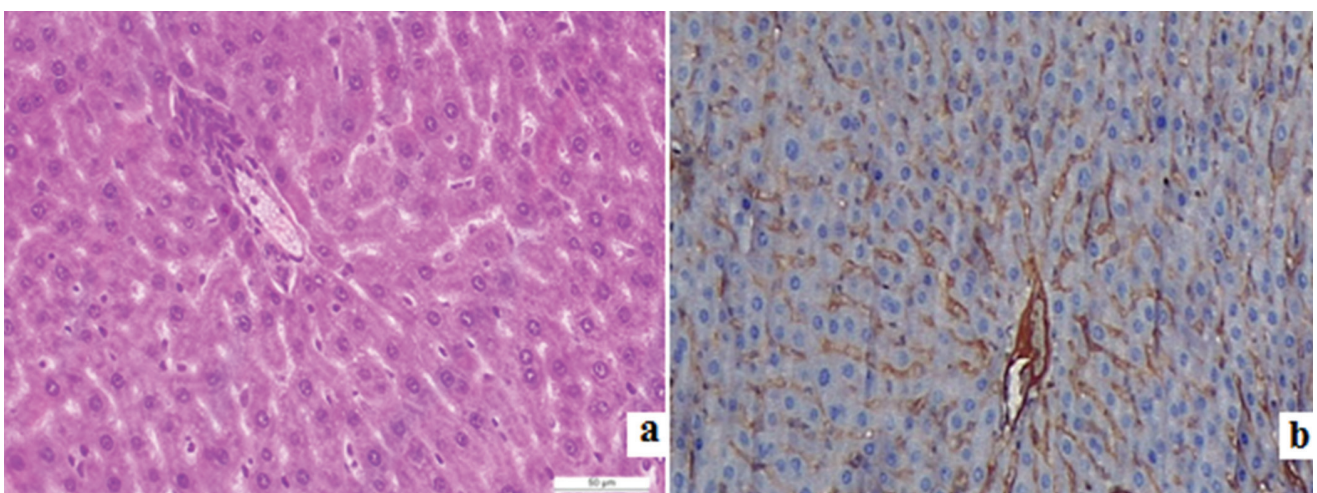


Рис.2. Центральні вени часточок печінки овальної форми, стінка тонка, вистелена шаром ендотеліальних клітин. Синусоїдні капіляри між рядами печінкових балок. Забарвлення гематоксиліном та еозином (а); ІГХ типування ендотелію за допомогою маркера CD31 (b). Збільшення а, b 400

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами проведено гістологічне дослідження мікрогемодинамічного русла і стромально-паренхіматозних структур печінки після 4-х тижнів застосування олії канабідіолу. Паренхіма печінки експериментальних щурів зберігала свою фізіологічну будову. Структура печінкових часточок не порушена. На гістологічних препаратах класична часточка мала вигляд правильного шестикутника, у центрі якого розташована центральна вена, а у вершинах – портальні тракти. Структурні межі часточок в експериментальних щурів були не чіткі, так як сполучна тканина печінки слабо виражена і не бере участі в розмежуванні часточок. За межі часточок бралися умовні лінії між портальними трактами.

У межах часточок відносно правильними рядами розміщувалися печінкові клітини, формуючи радіальні печінкові пластинки. Морфологічно відзначалося збереження структури і форми гепатоцитів. Гепатоцити були звичайної будови, мали багатокутну форму, добре помітні межі. Цитоплазма амфотильна чи еозинотильна і гранулярна. В окремих гепатоцитах виявлялася мікровезикулярна дистрофія. Ядра гепатоцитів розташовані центрально, містили одне або два добре помітні ядра, які могли дещо відрізнятися за величиною і формою, але частіше були округлі. При детальному гістологічному вивченні гепатоцитів в деяких з них ядра були зміщені на периферію, також зустрічалися гепатоцити з диспергованим або конденсованим хроматином у ядрі. Переважна більшість гепатоцитів одноядерні, поряд із ними зустрічалися поодинокі двоядерні гепатоцити. Звертали на себе увагу перипортальні гепатоцити, які були дещо менші за розмірами, ядра їх гіперхромніші, а цитоплазма базофільна. Загалом часточкова і балкова структура печінки була збережена тварин експериментальної групи і не відрізнялася від контролю (рис. 1 a-d).

Враховуючи той факт, що мікроциркуляторне русло печінки має тісний структурно-функціональний зв'язок із оточуючою паренхімою, нами було проведено гістологічне дослідження

компонентів судинного русла, зокрема артеріальних судин, портальних, венозних і лімфатичних судин, синусоїдів, а також жовчевих проток і клітин сполучнотканинної строми печінки. Мікроциркуляцію крові в печінковій часточці забезпечують міжчасточкові вени і артерії, дрібні гілочки міжчасточкових вен, які оточують часточки, так звані термінальні портальні венули, синусоїдні капіляри, центральні і підчасточкові вени.

Центральні вени часточок були округлої або овальної форми. Стінка центральної вени тонка, вистелена одним шаром ендотеліальних клітин. Сплющений ендотелій характеризувався наявністю також плескатих гіперхромних ядер. Цитоплазма ендотеліальних клітин рівномірно та інтенсивно забарвлювалася маркером CD31 і мала чіткі, рівні контури. Використання імерсії і збільшення зображення до 1000 разів показало переривчасту базальну мембрану і наявність тонкого простору, який був продовженням простору Діссе численних синусоїдів, що впадали в центральну вену. Результати проведених нами морфометричних досліджень діаметра центральної вени продемонстрували показники від 87,79 мкм до 90,89 мкм. Центральні вени декількох сусідніх часточок з'єднувалися з підчасточковими венами, які проходили в сполучнотканинних прошарках окремо від печінкових триад, не мали з'єднання з синусоїдами і впадали в нижню порожнисту вену. Морфологічно центральні і підчасточкові вени були без особливостей (рис. 2a, b).

Портальні тракти були утворені печінковою артерією, портальною веною, жовчевими протоками і лімфатичними судинами, і проходили в сполучнотканинних прошарках у вершинах часточок. В кожному портальному тракті розташовувалися по одній-дві і навіть у деяких трактах більше печінкових артерій, які кровопостачали жовчеві протоки. Печінкові артерії портальних трактів овальної або округлої форми, у просвіті деяких наявні еритроцитарні агрегати. Стінка печінкової артерії незначно потовщена, її внутрішня оболонка вистелена збереженим ендотелієм. Ядра ендотеліальних клітин плескаті, видовженої фор-

ми. Зустрічається також незначне набухання ендотелію. Нами проведено заміри внутрішнього діаметра печінкової артерії і товщини її стінки. Визначали поперечний, поздовжній і діагональний розміри просвіту, а також заміри товщини стінки по периметру у різних місцях. Число і діаметр артерій в триаді може широко варіювати. Поздовжній замір діаметра печінкової артерії був найбільшим і склав 61,88 мкм, діагональний – 46,20 мкм, поперечний – 37,63 мкм. Товщина стінки по периметру була нерівномірною і складала в різних місцях від 3,87 мкм до 4,78 мкм. В окремих випадках просвіт печінкової артерії у портальних трактах звужений за рахунок набухання ендотелію і лейкоцитів. Жовчеві протоки звичайної будови (рис.1 а-d).

Гілки портальної вени мали діаметр від 350 мкм до 400 мкм і утворювали великі міжчасточкові вени, а гілки міжчасточкових вен поділялися на претермінальні вени, що розташовувалися у портальних трактах, які мали трикутну форму, і термінальні вени, які розташовувалися у портальних трактах, що мали округлу форму і були меншими. Діаметр претермінальних портальних вен коливався від 105 мкм до 150 мкм, а вже їх термінальні гілки мали діаметри від 35 до 50 мкм. (рис. 1 с, d).

Синусоїдні капіляри при забарвленні гематоксиліном та еозином виглядали як світлі щілиноподібні простори між рядами печінкових балок, мали радіальний напрямок, сходилися до центра часточок і впадали в центральну вену (рис. 2а). Клітинна вистилка стінки синусоїдних капілярів сформована ендотеліоцитами і клітинами Купфера (резидентними печінковими макрофагами). Ендотеліоцити вистилали основну частину поверхні синусоїдних капілярів. ІГХ типування за допомогою маркера CD31 добре візуалізувало стінку синусоїдів (рис. 1b, 2b) і показало, що ендотеліоцити синусоїдів на великому збільшенні мали витягнуту форму і овальне гіперхромне ядро, що виступало у просвіт капіляра. Середній діаметр перипортальних синусоїдів був від 4,6 мкм до 6 мкм, тоді як центролобулярні синусоїди мали середній діаметр 7,5 мкм. Перипортальні синусоїди більше були представлені звивистими каналами, тоді як центролобуляр-

ні синусоїди були прямими. В деяких полях зору окремі синусоїди були незначно розширені з діаметром від 9,1 мкм до 11 мкм, наявний еритростаз (рис. 3 а-с).

За даними Xie G, Wang C. зі співавт. виділення перипортальних, середньочасточкових і центролобулярних синусоїдів печінки дозволяє досліджувати, наприклад, зональну токсичність лікарських засобів. Багато процесів є залежними від синусоїдальних ендотеліальних клітин печінки, включаючи медикаментозне ураження печінки, ішемічно-реперфузійне ураження та інші [12].

Клітини Купфера, або зірчасті ретикулоендотеліоцити, були локалізовані на ендотеліоцитах і між ними. Вони більші за ендотеліальні клітини, неправильної зірчастої форми, з великим овальним ядром та маленькими ядерцями. ІГХ типування клітин Купфера за допомогою маркера CD68 показало, що популяція клітин Купфера неоднорідна. Ми виділяли два типи клітин: великі, які локалізувалися, головним чином, в перипортальній зоні, і малі, які розташовувалися, в основному, в центральній зоні часточки (рис. 4 а, b). Купферівські клітини входять до системи мононуклеарних фагоцитів, функція яких є важливою ланкою у підтримці сталості внутрішнього середовища організму. Проникаючи своїми відростками в простір Діссе, а також між ендотеліальними клітинами, при цьому не утворюючи з ними специфічних сполук, зірчасті ретикулоендотеліоцити розміщуються в ендотеліальній вистилці синусоїда, як би пломбуєчи місце розриву між сусідніми ендотеліальними клітинами, забезпечуючи цілісність стінки синусоїдів [13].

Крім того, до складу строми печінки входять сполучнотканинні клітини: фібробласти, які продукують колаген, клітини Іто, тучні клітини і Ріт-клітини, які розміщуються переважно в синусоїдах. Сполучна тканина містить також більш тонкі розгалужені колагенові волокна, що утворюють опорну сіткоподібну структуру між гепатоцитами [14].

У літературі представлені результати експериментальних досліджень, в яких автори висловлюють занепокоєння через розвиток гепатотоксичності, спричиненої канабідіолом

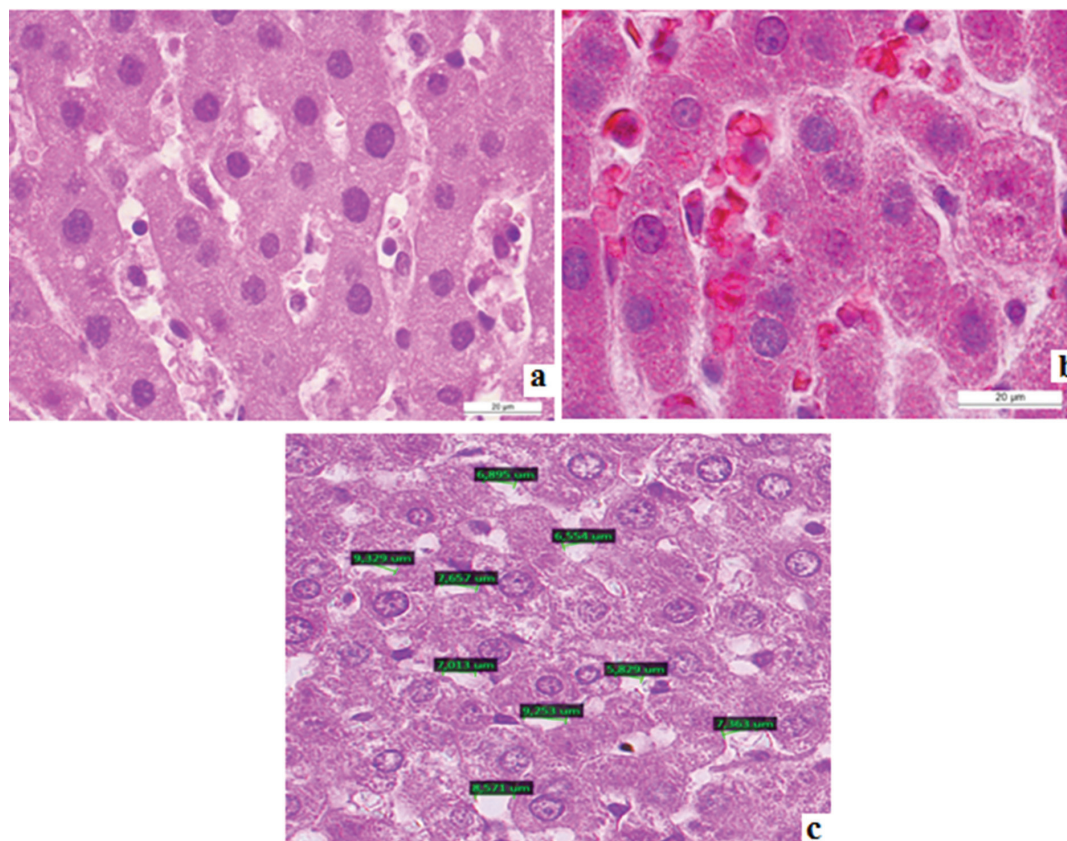


Рис. 3. Синусоїдні капіляри печінки. В окремих синусоїдах – еритростаз, ендотеліоцити синусоїдів мають витягнуту форму і овальне гіперхромне ядро, що виступає у просвіт капіляра; діаметр перипортальних синусоїдів від 4,6 мкм до 6 мкм, окремі синусоїди з діаметром від 9,1 мкм до 11 мкм. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x1000, імерсія

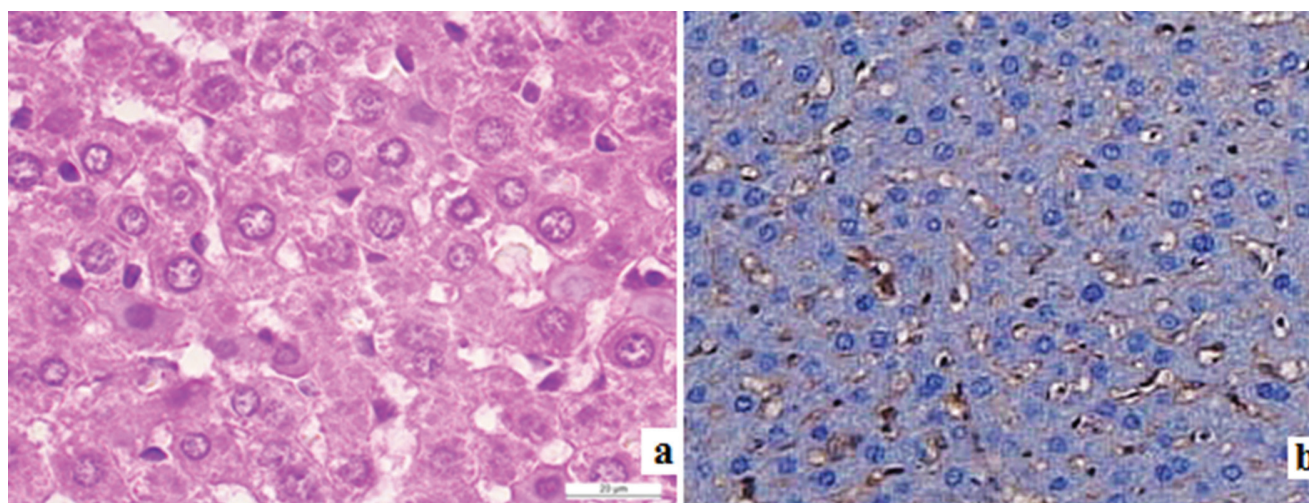


Рис.4. Клітини Купфера між ендотеліальними клітинами синусоїдів. Забарвлення гематоксиліном та еозином (a). x1000, імерсія; ІГХ типування клітин Купфера за допомогою маркера CD68 (b). x1000, імерсія

[15]. В останніх клінічних випробуваннях підвищені печінкові ферменти спостерігалися у 5–20% пацієнтів, які отримували канабідіол, і кілька пацієнтів були виключені через загрозу фульмінантної печінкової недостатності [16, 17]. Ewing LE зі співавтор. досліджували гепатотоксичність канабідіолу у 8-тижневих самців мишей лінії B6C3F1. Тваринам вводили різні дози КБД, включаючи високі дози 246, 738 або 2460 мг/кг, викликаючи гостру токсичність впродовж 24 годин, або дози 61,5, 184,5 і 615 мг/кг протягом 10 днів, викликаючи підгостру токсичність. Ці дози являли собою алометричні еквівалентні дози для мишей максимальної рекомендованої підтримуючої дози КБД для людини у препараті EPIDIOLEX® (20 мг/кг). У дослідженні з гострою токсичністю спостерігалось значне збільшення співвідношення маси печінки до маси тіла, підвищення АЛТ, АСТ і загального білірубину в плазмі при дозі 2460 мг/кг. У дослідженні з підгострою токсичністю у 75% мишей, які отримували через зонд 615 мг/кг, розвинувся смертельний стан між третьою і четвертою добою. Як і під час гострої фази, при дозі 615 мг/кг КБД, фіксували підвищення співвідношення маси печінки до маси тіла, АЛТ, АСТ і загальний білірубін. Крім того, дослідження експресії генів гепатотоксичності показали, що КБД диференційовано регулює понад 50 генів, багато з яких були пов'язані з реакціями на окислювальний стрес, шляхами метаболізму ліпідів і ферментами, що метаболізують ліки. КБД демонстрував явні ознаки гепатотоксичності, можливо, холестатичної природи. Залучення численних шляхів, пов'язаних з метаболізмом ліпідів і ксенобіотиків, викликає серйозні занепокоєння щодо потенційної взаємодії лікарських засобів, а також щодо безпеки КБД [18].

ВИСНОВКИ

На підставі проведеного гістологічного та імуногістохімічного дослідження встановлено, що застосування впродовж 4 тижнів в якості харчової добавки 10% олії КБД не викликало гострих чи хронічних ушкоджень печінки. Порушень часточково-балкової структури не

виявлено, гістологічна структура компонентів судинного русла, зокрема артеріальних судин, порталних, венозних і лімфатичних судин, синусоїдів, а також жовчевих проток і клітин сполучнотканинної строми печінки не відрізнялась від контрольної групи ($p < 0,05$).

Крім того, існує велика потреба в додаткових дослідженнях інших часових проміжків, щоб визначити можливий несприятливий вплив на печінку, оцінити фактори ризику та результати для можливого визначення оптимального застосування лікарських засобів для людини.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES

- Schilling S, Melzer R, McCabe PF. Cannabis sativa. Curr Biol. 2020 Jan 6;30(1): R8-R9. DOI: 10.1016/j.cub.2019.10.039.
- Britch SC, Babalonis S, Walsh SL. Cannabidiol: pharmacology and therapeutic targets. Psychopharmacology (Berl). 2021 Jan;238(1):9-28. DOI: 10.1007/s00213-020-05712-8.
- Williamson EM, Liu X, Izzo AA. Trends in use, pharmacology, and clinical applications of emerging herbal nutraceuticals. Br J Pharmacol. 2020; 177(6): 1227–40. DOI: 10.1111/bph.14943
- Bergamaschi MM, Queiroz RHC, Zuardi AW, Crippa JAS. Safety and side effects of cannabidiol, a Cannabis sativa constituent. Curr Drug Saf. 2011; 6(4): 237–49. DOI: 10.2174/157488611798280924
- Bhamra SK, Desai A, Imani-Berendjestanki P, Horgan M. The emerging role of cannabidiol (CBD) products; a survey exploring the public's use and perceptions of CBD. Phytother Res. 2021; 35(10): 5734–40. DOI: 10.1002/ptr.7232
- Chesney E, Oliver D, Green A, Sovi S, Wilson J, Englund A, et al. Adverse effects of cannabidiol: a systematic review and

- meta-analysis of randomized clinical trials. *Neuropsychopharmacol.* 2020; 45(11): 1799–806. DOI: 10.1038/s41386-020-0667-2
7. Manthey J. Cannabis use in Europe: current trends and public health concerns. *Int J Drug Policy.* 2019; 68: 93–6. DOI: 10.1016/j.drugpo.2019.03.006
8. Arzimanoglou A, Brandl U, Cross JH, Gil-Nagel A, Lagae L, Landmark CJ. The cannabinoids international expert's panel; collaborators. *Epilepsy and cannabidiol: a guide to treatment.* *Epileptic. Disord.* 2020; 22: 1–14. DOI: 10.1684/epd.2020.1141.
9. Comi G, Solari A, Leocani L, Centonze D, Otero-Romero S. Italian consensus group on treatment of spasticity in multiple sclerosis. *Eur. J. Neurol.* 2020; 27: 445–453. DOI: 10.1111/ene.14110.
10. Gamble, L.J., Boesch, J.M., Frye, C.W., Schwark, W.S., Mann, S., Wolfe, L., Brown, H., Berthelsen, E.S., Wakshlag, J.J. Pharmacokinetics, Safety, and Clinical Efficacy of Cannabidiol Treatment in Osteoarthritic Dogs. *Front. Vet. Sci.* 2018; 5:165. DOI: 10.3389/fvets.2018.00165.
11. Available on: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/324-2021-п#Text>
12. Xie G, Wang L, Wang X, Wang L, DeLeve LD. Isolation of periportal, midlobular, and centrilobular rat liver sinusoidal endothelial cells enables study of zonated drug toxicity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2010 Nov;299(5): G1204-10. DOI:10.1152/ajpgi.00302.2010.
13. Wisse E. An ultrastructural characterization of the endothelial cell in the rat liver sinusoid under normal and various experimental conditions, as a contribution to the distinction between endothelial and Kupffer cells. *J. Ultrastruct. Res.* 1972; 38: 528.
14. Wisse E, De Zanger RB, Charels K, Van Der Smissen P, & McCuskey RS. The liver sieve: Considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall, and the space of Disse. *Hepatology.* 1985; 5: 683–92.
15. Marx TK, Reddeman R, Clewell AE, Endres JR, Beres E, Vertesi A, Glavits R, Hirka G, Szakonyine IP. An Assessment of the Genotoxicity and Subchronic Toxicity of a Supercritical Fluid Extract of the Aerial Parts of Hemp. *J. Toxicol.* 2018; 8143582. DOI: 10.1155/2018/8143582.
16. Devinsky O, Cross, J.H., Wright, S. Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome. *N. Eng. J. Med.* 2017; 377:699–700. DOI: 10.1056/NEJMoa1611618.
17. Thiele EA, Marsh ED, French JA, Mazurkiewicz-Beldzinska M, Benbadis SR, Joshi C, Lyons PD, Taylor A, Roberts C, Sommerville K. Cannabidiol in patients with seizures associated with Lennox-Gastaut syndrome (GWPCARE4): A randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet.* 2018; 391:1085–96. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)30136-3.
18. Ewing LE, Skinner CM, Quick CM, Kennon-McGill S, McGill MR, Walker LA, ElSohly MA, Gurley BJ, Koturbash I. Hepatotoxicity of a Cannabidiol-Rich Cannabis Extract in the Mouse Model. *Molecules.* 2019 Apr 30;24(9):1694. DOI: 10.3390/molecules24091694.

Article history:

Received: 18.06.2023

Revision requested: 26.06.2023

Revision received: 21.08.2023

Accepted: 15.09.2023

Published: 30.09.2023

MORPHOLOGICAL FEATURES OF THE LIVER AND CONDITION OF THE MICROCIRCULATORY BED
AFTER EXPERIMENTAL APPLICATION OF CANNABIDIOL OIL

Shevchuk M.M., Volos L.I.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Liliya.volos@gmail.com

Background. Cannabidiol (CBD) is a natural non-psychoactive phytocannabinoid found in ordinary hemp. There has been a significant increase in the use of CBD in recent years with potential therapeutic effects, however, most of which have been documented in clinical trials and some with questionable results. Of particular concern is the possible risk of hepatotoxicity caused by CBD, therefore, additional experimental studies are needed to research the chronic effects of low doses of CBD, features of pathohistological changes in the liver, with an emphasis on the levels of possible damage to liver vessels, features of hemodynamics, at the level of the microcirculatory bed.

Aim: to investigate the histological features of liver changes and the condition of the microcirculatory bed after 4 weeks of experimental application cannabidiol oil.

Materials and methods. The research was conducted on white male rats, weighing 180-230 g, aged 5-7 months at the beginning of the experiment. The rats were kept in standard vivarium conditions, the main group consisted of 18 rats, which were given 5 drops (3 mg) of 10% cannabidiol oil daily for 4 weeks in the main feed, 6 rats – the intact group. All experiments were conducted in accordance with international rules for humane treatment of animals. Collection of biological material was carried out after euthanasia using diethyl ether. A histological and immunohistochemical study of the liver and blood vessels was performed to determine the effect of 10% cannabidiol oil.

Results. Based on the conducted histological and immunohistochemical research, it was established that the use of 10% CBD oil as a food supplement for 4 weeks did not cause acute or chronic liver damage. No violations of the lobular structure were detected, the histological structure and morphometric parameters of the components of the vascular bed, in particular arterial vessels, portal, venous and lymphatic vessels, sinusoids, bile ducts and cells of the connective tissue stroma of the liver, did not differ from the control group.

Conclusion. Given the lack of adverse effects after four weeks use of 10% CBD oil on the parenchymal and stromal components of the liver, more research is needed of other time points to determine possible adverse effects on the liver, assess risk factors, and outcomes to potentially determine optimal human medical drugs with CBD oil use.

Key words: Cannabis sativa, cannabidiol, liver, blood vessels, pathohistology, immunohistochemistry.