

HISTOLOGICAL ORGANIZATION OF THE PARENCHYMATOUS AND STROMAL-VASCULAR COMPARTMENT OF THE LIVER OF WHITE RATS ON THE 42nd DAY OF EXPERIMENTAL APPLICATION OF HEMP SEED OIL

State Non-Profit Enterprise “Danylo Halytsky Lviv National Medical University” (Lviv, Ukraine)

Liliya.volos@gmail.com

Hemp oil, extracted from the seeds of industrial hemp Cannabis sativa L., is widely used in medicine and the food industry. It has a positive effect on the body and on biological and physiological processes due to its ideal ratio of essential polyunsaturated fatty acids. The aim of the study was to evaluate the histological organization of the parenchymal and stromal-vascular components of the liver of rats on the 42nd day of experimental application of hemp seed oil. The study was conducted on 26 sexually mature white male rats weighing 180-230 g in compliance with bioethical standards. The daily dose of hemp seed oil in the experimental group was 0.5 ml/kg, and in the control group – 0.1 ml/kg. The morphological features of the liver were determined, and a morphometric study of the diameter of the vessels of the microcirculatory bed of the liver was performed with statistical data processing. It was found that the structural organization of the parenchymal and stromal-vascular components of the liver on the 42nd day of experimental use of hemp seed oil as a dietary supplement at a dose of 0.5 ml/kg/day was not disturbed, no morphological signs of inflammation and necrotic changes in hepatocytes were found, microvesicular steatosis in <5% of hepatocytes corresponded to grade S0 according to Kleiner and indicated the absence of parenchymal fatty degeneration of the liver. Morphometric analysis of the microcirculatory vessels of the liver on the 42nd day of experimental application of hemp seed oil at a dose of 0.5 ml/kg/day showed no significant difference between the average values of their diameters and the relative values of dilation and fullness in the experimental and control groups and intact animals ($p>0.05$), indicating the safety of consuming hemp seed oil at a dose of 0.5 ml/kg/day.

Key words: liver, microcirculatory bed, histology, morphometry, rats, experiment, hemp seed oil.

Connection of the publication with planned research work.

The work is a fragment of the research project “Study of the pathogenetic mechanisms and pathomorphological features of diseases of the endocrine, cardiovascular, respiratory, nervous, digestive, urinary and reproductive systems with the aim of improving their morphological diagnosis”, state registration number 0123U201668.

Introduction.

Cannabis Sativa L. seeds are a very important and valuable raw material for oil production [1]. The seeds are a unique source of protein, consisting of 20-25% easily digestible protein, containing vitamins, minerals, and about 35% beneficial oil obtained by cold pressing [2]. Hemp oil contains 20 amino acids, including 9 essential polyunsaturated fatty acids in an ideal ratio of omega-6 linoleic acid to omega-3 alpha-linolenic acid of 3 to 1. This ratio of polyunsaturated fatty acids has a positive effect on the body's condition and biological and physiological processes when hemp seed oil is consumed daily [3, 4]. Hemp oil, which is used for food purposes, also helps to lower cholesterol levels, is effective in treating hypertension and constipation, and has anti-inflammatory effects in skin diseases and autoimmune diseases [2, 4-6].

The results of experimental studies conducted by N. Kaushal et al. (2020) showed a positive effect of hemp seeds on obesity in Wistar rats caused by a high-fat diet. Thus, consumption of hemp seeds for 1 and 2 months reduced hypercholesterolemia, major liver enzymes, and morphological manifestations of macro- and microvesicular liver steatosis, indicating the hepatoprotective effects of hemp seeds and their antioxidant and anti-inflammatory role [7].

Authors M. Majewski, A. Jurgoński (2021) also studied Zucker rats with genetically determined obesity and the effect of hemp seeds and hemp oil on vascular dysfunction and found that seed supplements were more effective and beneficial than oil due to a wider range of potentially bioactive compounds [8]. Experimental studies by P. Opyd (2020) also demonstrated that edible hemp seeds are more effective than oil extracted from them in alleviating metabolic disorders in rats with genetically determined obesity, suggesting that the lipid fraction is only partially responsible for these effects [9].

Important are the results of an experimental study conducted on white albino Wistar rats to determine the toxicological effects and side effects of hemp seed oil on the liver after 4 weeks of oral administration of various doses in the experimental groups – 0.01 ml/kg/day, 0.1 ml/kg/day, and 1 ml/kg/day. A significant increase in liver enzymes ALT, AST, and LF was observed in all experimental groups compared to the control group. In the experimental groups with a dosage of hemp seed oil of 0.01 ml/kg/day and 0.1 ml/kg/day, pathological changes in the liver were observed in the form of mild fatty hepatosis and congestive phenomena in the liver, however, in the group of animals with a dosage of 1 ml/kg/day, parenchymal fatty liver dystrophy was significantly pronounced. Histological examination of liver samples in the group of animals receiving a dose of 1 ml/kg of hemp oil revealed widespread macro- and microvesicular steatosis and focal areas of hepatocyte necrosis. Similar changes were observed in the groups of animals with doses of 0.01 ml/kg/day and 0.1 ml/kg/day, but to a much lesser extent [10]. We previously conducted an experimental study on the use of hemp seed oil as a dietary supplement in doses of 0.5 ml/kg/day and 0.1 ml/kg/day for 4 weeks and found that there were

no dystrophic-necrotic and inflammatory signs in the parenchymal, stromal-vascular components of the liver of rats, there were no statistically significant changes in the average diameters of the microcirculatory bed and relative blood flow indicators compared to the control, and in general, the microscopic structure of the vascular component did not differ from the control group [11]. Despite the results obtained, further experimental studies are needed on the long-term use of hemp seed oil and the establishment of pathological and histological changes in the parenchymal and stromal-vascular compartments of the rat liver.

The aim of the study.

To determine the histological features of the parenchymal and stromal-vascular compartments of the liver in white rats on the 42nd day of experimental application of hemp seed oil.

Object and research methods.

The experiment lasted 42 days and was conducted on 26 non-linear white male rats weighing 180-230 g. The animals were 5-7 months old at the start of the experiment, which corresponds to active sexual maturity. The rats were kept in special cages in a ventilated room of a standard vivarium at a controlled temperature of $21 \pm 1^\circ\text{C}$ and humidity of 50-55%, had a standard diet for laboratory animals and constant access to fresh water (*ad libitum*). Throughout the experiment, observations were made on feed intake and the general condition of the animals. The behaviour of the rats and the condition of their fur were also assessed.

The rats were divided into three groups. The experimental group consisted of 14 animals, which were administered hemp seed oil orally once a day for 6 weeks at a dose of 0.5 ml/kg/day; the control group consisted of 6 animals, which were administered hemp seed oil orally once a day for six weeks at a dose of 0.1 ml/kg/day (minimum concentration); the intact group consisted of 6 sexually mature white male rats. The dose for the experiment was calculated based on the recommended dose of 0.25 g/kg for an adult human, as documented in the Chinese Pharmacopoeia, and 35% oil content in hemp seeds [4] using the equation: dose for animals (g/kg) = dose for humans (g/kg) $\times$ oil content in hemp seeds $\times$ Km for humans/Km for animals, where Km for an adult human was 37 and Km for a rat was 6 [12]. The dose was 0.54 g/kg, and the oil density was 1.08 g/ml. Thus, $0.54 \text{ g/kg} \div 1.08 \text{ g/ml} = 0.5 \text{ ml/kg}$.

All experimental procedures involving animals were conducted after ethical approval by the Danylo Halytsky Lviv National Medical University, which was granted by members of the Bioethics Committee (Protocol No. 7 of 29 August 2022) in compliance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes (Strasbourg, 1986), Council Directive 2010/63/EU, Law of Ukraine No. 3447-IV 'On the Protection of Animals from Cruel Treatment,' and ethical requirements in accordance with Order No. 231 of the Ministry of Health of Ukraine dated 1 November 2000 [13, 14].

The material for research was collected at the end of the experiment after euthanasia and autopsy. The rats' livers were subjected to morphological examination. Pieces of liver tissue were fixed in 10% neutral buffered formalin, dehydrated in ascending concentrations of alcohol and embedded in paraffin according to standard

procedure, after which histological sections $5 \pm 1 \mu\text{m}$ thick were prepared from the paraffin blocks and stained with hematoxylin and eosin for general examination [15].

The morphological features of the parenchymal and stromal-vascular compartments of the liver were studied. The degree of hepatosis was determined according to Kleiner [16]. Immunohistochemical studies were also performed on histological sections from paraffin blocks intended for standard morphological examination. Monoclonal antibodies for CD68 macrophages (Clone KP1, DAKO) and CD31 vascular endothelium (Clone JC70A, Thermo Fisher Scientific) were used with appropriate control and visualization using a chromogen detection system with diaminobenzidine [17, 18]. Morphometric examination of the diameter of the microcirculatory vessels of the lobule with determination of indicators was performed using Aperio ImageScope v12.3.3 software (Leica biosystems, Wetzlar, Germany). For general examination of histological preparations, morphometric study, and microphotography, a Leica DM 2500 light microscope (Leica Microsystems GmbH, Germany) with a Leica DFC450 C digital camera (Germany) and Leica Application Suit Version 3.8 software was used.

Statistical data processing was performed using Microsoft Office Excel. The reliability of the difference between group indicators was checked using the Mann-Whitney U test, and relative indicators were checked using Pearson's chi-square test. The difference was considered statistically significant at a minimum significance level of $p < 0.05$ [19].

Research results and their discussion.

In macroscopic examination, the liver of rats after 6 weeks of experimental use of hemp seed oil had a red-brown color and did not differ from the control group and the intact group. The outer surface of the liver is smooth, shiny, covered with a thin connective tissue capsule. When analyzing histological preparations of the liver, it was noted that the liver of rats in the experimental group was characterized by a lobular structure. Hepatocytes of the lobules in most cases had a polyhedral shape with granular cytoplasm. The average diameter of hepatocytes was $14.47 \pm 1.55 \mu\text{m}$. Hepatocytes were arranged in irregular rows, which branched out and ran from the periphery of the lobule towards the central vein. The nuclei of hepatocytes were rounded with clear karyolemma and distinct nucleoli and chromatin grooves. The average diameter of the nuclei was $7.53 \pm 0.37 \mu\text{m}$. Among the hepatocytes, there were binuclear cells with a diameter of up to $25.68 \mu\text{m}$.

A detailed histological examination showed that in the liver samples of the experimental group, individual hepatocytes with signs of dust-like accumulation of neutral fats and microvesicular steatosis were found in $<5\%$ of liver cells, which corresponded to the degree of hepatosis according to Kleiner S0. These changes were observed in hepatocytes both at the periphery of the liver lobules and in the centrolobular zone (**fig. 1**). In 3 ($21.43[4.74-45.78]\%$) of 14 cases, we diagnosed a mild degree of steatosis S1 according to Kleiner with dust-like accumulation of lipids in cytoplasm of 5-33% hepatocytes and found a significant difference from the control group, $p(\chi^2) = 0.03$.

Sinusoids were located between hepatocyte beams. The sinusoidal compartment included fenestrated endothelial cells of hemocapillaries, Kupffer cells, and peri-

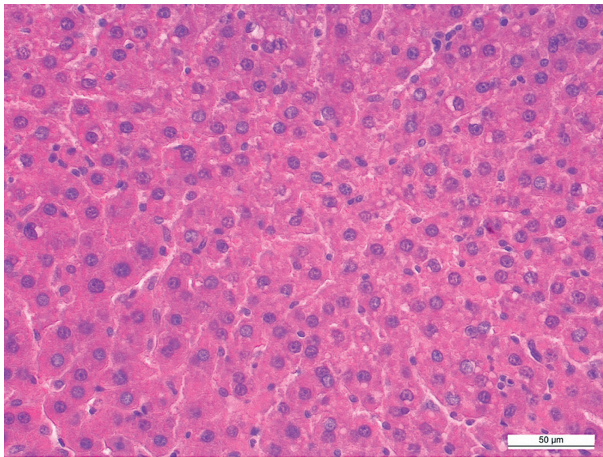


Figure 1 – Dust-like accumulation of neutral fats in hepatocytes in the intermediate zone of the hepatic lobule, degree of steatosis according to Kleiner was S0. Experimental group of hemp seed oil with a concentration of 0.5 ml/kg/day. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: $\times 400$.

sinusoidal cells. Sinusoidal capillaries are thin-walled and were dilated in some areas. The average diameter of the sinusoids was $7.24 \pm 1.47 \mu\text{m}$ and did not differ significantly from the control group ($p=0.16$). The walls of the sinusoidal capillaries were formed by flattened endothelial cells. Endothelial cells could be identified by elongated basophilic nuclei adjacent to the walls of sinusoidal capillaries and by immunohistochemical typing of the endothelium using the CD31 marker (**fig. 2**).

The walls of sinusoidal capillaries contained Kupffer cells, which were attached to the wall with their processes. These are large star-shaped cells that are macrophages of the liver and participate in the phagocytosis of microorganisms, toxins, and foreign substances. Kupffer cells were larger than endothelial cells and showed hypertrophy (**fig. 3**). In addition to hypertrophy, we noticed an increase in the number of Kupffer cells, i.e., their hyperplasia was observed in all areas of the lobule.

The sinusoids drain into a central vein, the inner wall of which was lined by endothelial cells with oval or elongated narrow rod-like nuclei. The central (hepatic) veins are of the non-muscular type (**fig. 4**). The average diameter of the central veins was $71.37 \pm 5.41 \mu\text{m}$ and did not differ significantly from the control group ($p=0.73$). We

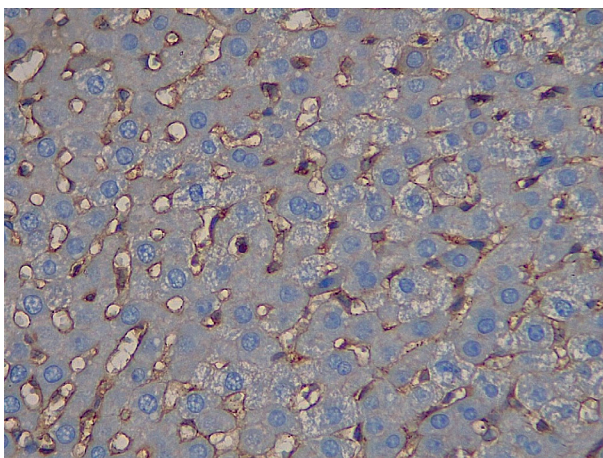


Figure 3 – Hypertrophy of Kupffer cells. Individual hepatocytes with signs of dust-like accumulation of neutral fats and microvesicular steatosis in the intermediate zone of the lobule, degree of steatosis according to Kleiner S1. Experimental group of hemp seed oil with a concentration of 0.5 ml/kg/day. IHC typing of Kupffer cells using the CD68 marker. Magnification: $\times 400$.

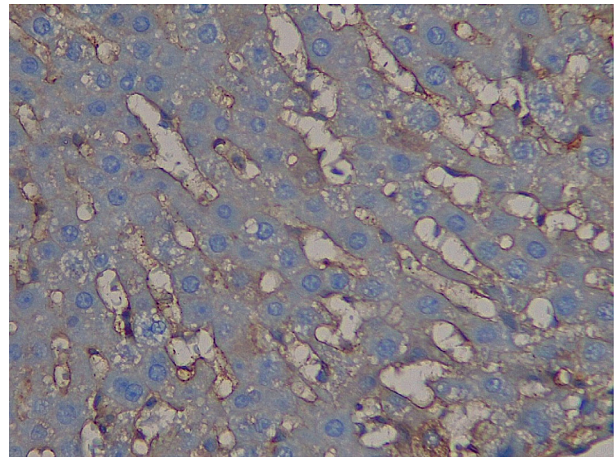


Figure 2 – Some sinusoidal capillaries are dilated, endothelium in the sinusoids is preserved. Experimental group of hemp seed oil with a concentration of 0.5 ml/kg/day. IGH typing of the endothelium using the CD31 marker. Magnification: $\times 600$.

did not diagnose any disturbances in blood flow from the hepatic lobules.

Connective tissue layers in the liver of animals are very weak, few layers consist of thin fibers and cellular elements surrounding interlobular blood vessels and bile ducts in the portal triads, no signs of inflammation were found (**fig. 5**). Interlobular veins and hepatic arteries differed in the thickness of the muscular layer and the size of the lumen. Interlobular veins were the largest vessels in the triads and had a large lumen. The average diameter of interlobular veins was $45.65 \pm 1.49 \mu\text{m}$ and did not differ significantly from the control group ($p=0.93$).

Their muscular layer consists of smooth myocytes, and the intima is characterized by a continuous endothelial lining. The adventitia of the interlobular veins is well developed. The fibers that comprise it are intertwined with elements of the connective tissue of the portal tract.

The interlobular bile ducts were lined with cubic and low prismatic epithelium with a weakly expressed basement membrane. The boundaries of the epithelial cells were quite clearly visible. The rounded and oval cell nuclei are weakly stained with hematoxylin but have a well-defined membrane. The bile ducts were also char-

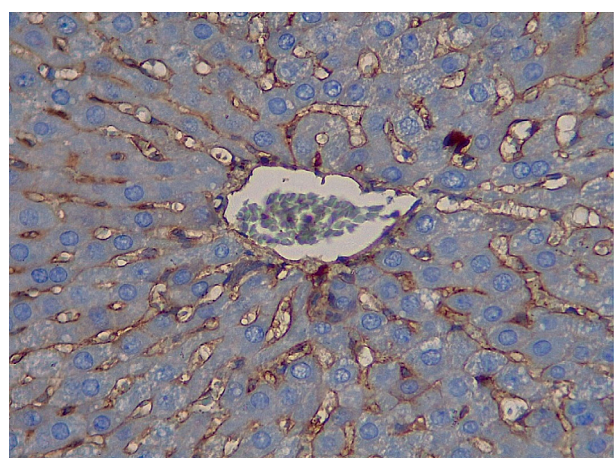


Figure 4 – Central vein with preserved endothelium, formed blood elements in the lumen. The endothelium in the sinusoids is preserved; some sinusoids are dilated. Experimental group of hemp seed oil with a concentration of 0.5 ml/kg/day. IHC typing of the endothelium using the CD31 marker. Magnification: $\times 400$.

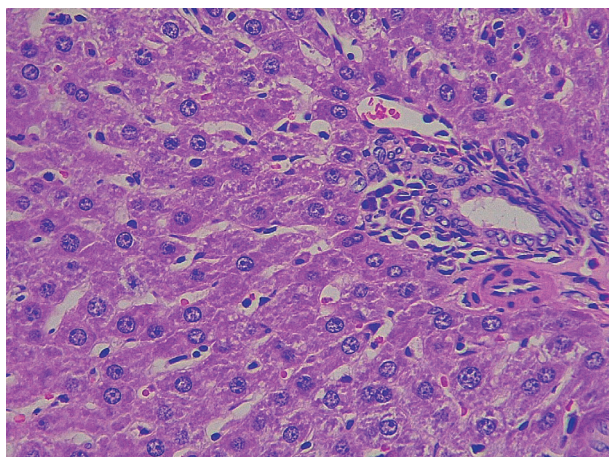


Figure 5 – Portal triad of the classic hepatic lobule and sinusoidal compartment after 6 weeks of experimental application of hemp seed oil at a concentration of 0.5 ml/kg/day. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: x400.

acterized by the presence of a clear-cut connective tissue membrane.

Interlobular arteries belong to the muscular type of arteries, microscopically visualized layer of smooth muscle cells, endothelial cells without pathological changes. Compared to the interlobular vein, the interlobular artery has a smaller diameter and a thicker wall relative to the diameter of their lumen, with the largest proportion of the wall being the media. Three layers are visualized in the composition of its wall. Adventitia is characterized by moderate development. The muscular layer is formed by several layers of smooth myocytes. The nuclei of the myocytes are elongated and elongated in shape. When compared with the data of the control and intact groups, the morphology and morphometry of the interlobular arteries in the rats of the experimental group did not differ significantly ($p > 0.05$). The average diameter of the interlobular arteries of the liver was (OD (outer diameter) – $27.25 \pm 1.03 \mu\text{m}$; ID (inner diameter) – $17.40 \pm 0.65 \mu\text{m}$).

Sublobular veins were formed from the fusion of central veins; we did not observe any dilation or impaired blood flow (fig. 6). Sublobular and collecting veins were characterized by thin walls and preserved endothelium. The average diameter of the sublobular veins of the liver was $162.38 \pm 13.4 \mu\text{m}$, and the average diameter of the collecting veins was $321.64 \pm 36.05 \mu\text{m}$, which did not differ significantly from the control group ($p > 0.05$).

We compared the relative indicators of the presence of dilated and hyperemia vessels of the microcirculatory bed of the liver in the experimental group with the control group. Thus, in 1 (7.14 [0.01-25.77] %) of 14 cases, some hyperemic interlobular veins and interlobular arteries were diagnosed, but we did not find a significant difference with the control group; $p(\chi^2) = 0.77$ (for interlobular veins) and $p(\chi^2) = 0.79$ (for interlobular arteries). Regarding the presence of dilated and hyperemic sinusoids, in 4 (28.57 [8.85-54.04] %) of 14 observations, we diagnosed dilated and hyperemic some sinusoids; when compared with the control group, the difference was insignificant ($p(\chi^2) = 0.56$). In 1 (7.14 [0.01-25.77] %) of 14 observations, some hyperemic central veins were diagnosed in the fields of view, the significance according to Pearson's criterion was $p(\chi^2) = 0.18$, i.e., no significant difference with the control group was observed.

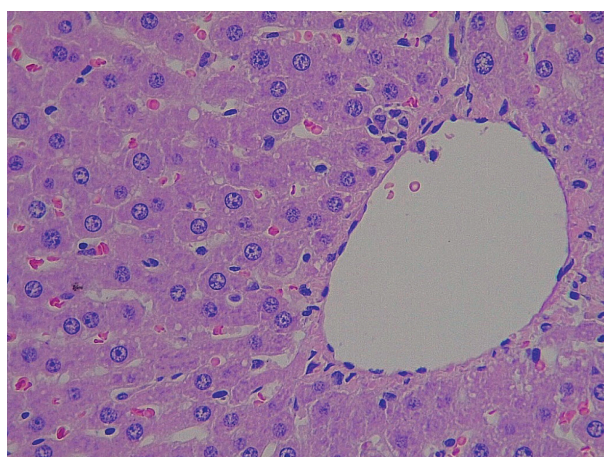


Figure 6 – Sublobular vein with preserved endothelium, without pathological changes. Experimental group of hemp oil with a concentration of 0.5 ml/kg/day, degree of steatosis according to Kleiner S0. Hematoxylin and eosin staining. Magnification: x400.

Thus, the histological, immunohistochemical and morphometric study of the liver of rats after 6 weeks of experimental use of hemp oil at a concentration of 0.5 ml/kg/day as a dietary supplement observed the features of the histological organization of the parenchymal and stromal-vascular compartments. According to the results of the histological study of the parenchymal compartment, it was found that in the liver of the experimental animals, signs of dust-like accumulation of neutral fats and microvesicular steatosis were diagnosed in <5% of hepatocytes, which corresponded to the Kleiner grade S0 (absent steatosis). These changes were diagnosed in hepatocytes both on the periphery of the liver lobules and in the centrilobular zone. In 3 (21.43 [4.74-45.78] %) of 14 cases, a mild degree of steatosis S1 according to Kleiner with dust-like and microvesicular accumulation of neutral fats in 5-33% of hepatocytes was diagnosed and a significant difference with the control group was observed, $p(\chi^2) = 0.03$. Morphological signs of inflammation and necrotic changes in hepatocytes were not detected.

The structure of the vascular compartment of the liver in rats in the experimental group after 6 weeks of experimental administration of hemp oil at a concentration of 0.5 ml/kg/day did not undergo morphological changes. The vessels of the microcirculatory bed of the liver were preserved, and the endothelial cells were clearly visualized using general examination methods and immunohistochemical typing of the endothelium using the CD31 marker. No significant difference in the mean diameter of the portal triad vessels was found compared to the control group ($p > 0.05$).

The sinusoidal compartment included fenestrated capillaries consisting of endothelial cells, hypertrophied Kupffer cells, and perisinusoidal cells. Some sinusoidal capillaries were dilated, with preserved endothelium. The mean diameter of the sinusoids was $7.24 \pm 1.47 \mu\text{m}$ and did not differ significantly from the control group ($p = 0.16$).

The data obtained are consistent with our previous findings on the short-term effects of hemp seed oil on the liver structure of rats [11] and with studies by other authors [20] after feeding rats a high-cholesterol diet for 8 weeks. According to the authors, hemp seed oil had a positive effect on rats after feeding them a high-choles-

terol diet. Histological signs of liver steatosis decreased, and positive dynamics were observed when hemp seed oil was used at a dose of 0.5 ml/kg/day compared to a high dose of 1 ml/kg/day and simvastatin at a dose of 10 mg/kg/day. Reduced levels of AST, ALT, creatinine and LDL were recorded when using hemp seed oil at a dose of 0.5 ml/kg/day [20]. According to the results of our study, hemp seed oil is a potentially beneficial dietary supplement for health.

Conclusions.

It was found that the structural organization of the parenchymal and stromal-vascular compartments of the liver on the 42nd day of experimental use of hemp seed oil as a dietary supplement at a dose of 0.5 ml/kg/day was not disturbed, no morphological signs of inflammation and necrotic changes in hepatocytes were found, microvesicular steatosis in <5% of hepatocytes corresponded to grade S0 according to Kleiner and indicated

the absence of liver parenchymal fatty disease (hepatic steatosis).

Morphometric analysis of the vessels of the portal triad, central, sublobular and collecting veins, and sinusoids on the 42nd day of experimental application of hemp seed oil at a dose of 0.5 ml/kg/day showed no significant difference between the average values of their diameters and the relative values of dilatation and hyperemia in the experimental and control groups and intact animals ($p>0.05$), indicating the safety of consuming hemp seed oil at a dose of 0.5 ml/kg/day.

Prospects for further research.

Further experimental studies are needed to determine the long-term use of hemp seed oil at a dose of 0.5 ml/kg/day and to establish the morphological organization of the components of the parenchymal and vascular-stromal compartments of the liver.

DOI 10.29254/2077-4214-2025-4-179-359-369

УДК 616.36–018.2:005:582.635.38]-092.9

Шевчук М. М., Волос Л. І.

ГІСТОЛОГІЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ ПАРЕНХІМАТОЗНОГО І СТРОМАЛЬНО-СУДИННОГО КОМПАРТМЕНТУ ПЕЧІНКИ БІЛИХ ЩУРІВ НА 42-У ДОБУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОЛІЇ НАСІННЯ КОНОПЕЛЬ

Державне некомерційне підприємство «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького» (м. Львів, Україна)

Liliya.volos@gmail.com

Конопляна олія, отримана з насіння промислових конопель *Cannabis sativa* L., широко використовується в медицині і харчовій промисловості, позитивно впливає на стан організму, на біологічні і фізіологічні процеси завдяки вмісту незамінних поліненасичених жирних кислот в ідеальному співвідношенні. Метою дослідження було оцінити гістологічну організацію паренхіматозного і стромально-судинного компоненту печінки щурів на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель. Дослідження було проведене на 26 статевозрілих білих щурах-самцях вагою 180-230 г із дотриманням біоетичних норм. Щоденна доза олії насіння конопель у дослідній групі складала 0,5 мл/кг, у контрольній – 0,1 мл/кг. Визначали морфологічні особливості печінки, проводили морфометричне дослідження діаметра судин мікроциркуляторного русла печінки із статистичною обробкою даних. Було встановлено, що структурна організація паренхіматозного і стромально-судинного компоненту печінки на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель як дієтичної добавки в дозі 0,5 мл/кг/добу не порушена, морфологічних ознак запалення і некротичних змін гепатоцитів не виявлено, мікроеваскулярний стеатоз у <5% гепатоцитів відповідав ступеню S0 за Kleiner і вказував про відсутність паренхіматозної жирової дистрофії печінки. Морфометричний аналіз судин мікроциркуляторного русла печінки на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу продемонстрував відсутність достовірної різниці між середніми показниками їх діаметрів і відносними показниками наявності дилатації і повнокров'я в дослідній, контрольній групах та інтактних тварин ($p>0.05$), що вказує на безпечність споживання олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу впродовж 42 діб.

Ключові слова: печінка, мікроциркуляторне русло, гістологія, морфометрія, щури, експеримент, олія насіння конопель.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом НДР «Вивчення патогенетичних механізмів та патоморфологічних особливостей захворювань ендокринної, серцево-судинної, дихальної, нервової, травної, сечовидільної та репродуктивної систем з метою удосконалення їх морфологічної діагностики», номер державної реєстрації 0123U201668.

Вступ.

Насіння конопель *Cannabis Sativa* L. є дуже важливою і цінною сировиною для виробництва олії [1]. На-

сіння є унікальним джерелом протеїнів, складається з 20-25% легкозасвоюваного білка, містить вітаміни, мінерали, близько 35% корисної олії, отриманої методом холодного віджиму [2]. У складі конопляної олії міститься 20 амінокислот, включаючи 9 незамінних поліненасичених жирних кислот в ідеальному співвідношенні омега 6 лінолевої кислоти до омега 3 альфа-ліноленової кислоти як 3 до 1. Таке співвідношення поліненасичених жирних кислот позитивно впливає на стан організму, на біологічні та фізіологічні процеси при щоденному споживанні олії насіння конопель [3, 4]. Також конопляна олія, яка використо-

вується у харчових цілях, сприяє зниженню рівня холестерину, є ефективною при гіпертонічній хворобі, при закрепах, має протизапальну дію при шкірних захворюваннях та автоімунних хворобах [2, 4-6].

Результати проведених експериментальних досліджень N. Kaushal зі співавтор. (2020) показали позитивний ефект насіння конопель при ожирінні щурів лінії Wistar, викликаному індукованою дієтою з високим вмістом жирів. Так, вживання насіння конопель впродовж 1 і 2 місяців знизило гіперхолестеринемію, основні ферменти печінки, морфологічні прояви макро- та мікроезичулярного стеатозу печінки, що свідчить про гепатопротекторні ефекти насіння конопель, їх антиоксидантну та протизапальну роль [7].

Автори M. Majewski, A. Jurgoński (2021) також досліджували щурів лінії Zucker з генетично обумовленим ожирінням і вплив насіння конопель та конопляної олії на судинну дисфункцію і встановили, що харчові добавки насіння були більш ефективними і кориснішими, ніж олія завдяки ширшому спектру потенційно біоактивних сполук [8]. Експериментальні дослідження P. Oryd (2020) також продемонстрували, що харчове насіння конопель ефективніше послаблює метаболічні порушення у щурів з генетично обумовленим ожирінням, ніж олія, видобута з нього, що свідчить про те, що ліпідна фракція лише частково відповідає за ці ефекти [9].

Важливими є результати експериментального дослідження, яке було проведене на білих щурах альбіносах лінії Wistar з метою з'ясування токсикологічного впливу і побічних ефектів олії насіння конопель на печінку після 4 тижнів перорального застосування різних доз в дослідних групах – 0,01 мл/кг/добу, 0,1 мл/кг/добу та 1 мл/кг/добу. Було встановлено достовірне підвищення ферментів печінки АЛТ, АСТ, ЛФ у всіх дослідних групах порівняно з контрольною групою; у дослідних групах з дозуванням олії насіння конопель 0,01 мл/кг/добу і 0,1 мл/кг/добу спостерігалися патологічні зміни печінки у вигляді незначного жирового гепатозу і застійних явищ у печінці, проте у групі тварин з дозуванням 1 мл/кг/добу паренхіматозна жирова дистрофія печінки була значно виражена. При гістологічному дослідженні зразків печінки у групі тварин з дозуванням 1 мл/кг конопляної олії було встановлено поширений макро- і мікроезичулярний стеатоз і вогнищеві ділянки некрозу гепатоцитів. У групах тварин із дозами 0,01 мл/кг/добу і 0,1 мл/кг/добу спостерігалися аналогічні зміни, але значно меншого ступеня вираженості [10]. Нами раніше було проведене експериментальне дослідження застосування олії насіння конопель як дієтичної добавки у раціон в дозах 0,5 мл/кг/добу і 0,1 мл/кг/добу впродовж 4 тижнів і встановлено, що дистрофічно-некротичних і запальних ознак в паренхіматозному, стромально-судинному компонентах печінки щурів не встановлено, відсутні статистично значущі зміни середніх показників діаметрів мікроциркуляторного русла і відносних показників кровотоку в порівнянні з контролем, і загалом мікроскопічна структура судинного компонента не відрізнялась від контрольної групи [11]. Попри отримані результати потрібні подальші експериментальні дослідження довгострокового застосування олії насіння конопель і встановлення патологічних і гістологічних змін в

паренхіматозному, стромально-судинному компартментах печінки щурів.

Мета дослідження.

Встановлення особливостей гістологічної організації паренхіматозного і стромально-судинного компартменту печінки білих щурів на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель.

Об'єкт і методи дослідження.

Експеримент тривалістю 42 доби проведений на 26 нелінійних білих щурах-самцях вагою 180-230 г. Вік тварин на початку експерименту склав 5-7 місяців, що відповідає активному статевозрілому віку. Щури утримувалися у спеціальних клітках у вентильованому приміщенні стандартного віварію при контрольованій температурі $21 \pm 1^\circ\text{C}$ і вологості 50-55%, мали стандартний для лабораторних тварин раціон і постійний доступ до свіжої води (ad libitum). Впродовж експерименту велися спостереження за поїданням корму і загальним станом тварин. Також оцінювали поведінку щурів і стан шерсті.

Щури були розподілені на три групи. Дослідну групу склали 14 тварин, яким упродовж 6 тижнів один раз на добу перорально крапельно вводили олію насіння конопель, доза становила 0,5 мл/кг/добу; контрольну групу склали 6 тварин, яким упродовж шести тижнів щоденно один раз на добу перорально крапельно вводили олію насіння конопель, доза становила 0,1 мл/кг/добу (мінімальна концентрація); інтактну групу склали 6 статевозрілих білих щурів-самців. Дозу для експерименту розраховували на основі рекомендованої дози 0,25 г/кг для дорослої людини, задокументованої в Китайській фармакопеї, і 35% вмісту олії в насінні конопель [4] за допомогою рівняння: доза для тварин (г/кг) = доза для людини (г/кг) $\times$ вміст олії в насінні конопель $\times$ Kт людини/Kт тварини, де Kт дорослої людини становив 37, а Kт щура – 6 [12]. Доза становила $0,54 \frac{\text{г}}{\text{кг}} \cdot \frac{1}{37} \cdot 6$, щільність олії – 1,08 г/мл. Таким чином, $0,54 \frac{\text{г}}{\text{кг}} \cdot \frac{1}{1,08 \frac{\text{г}}{\text{мл}}} \cdot 6 = 0,5$ мл/кг.

Всі експериментальні процедури за участю тварин проводилися після етичного схвалення у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького, яке було надане членами комісії з питань біоетики (Протокол №7 від 29.08.2022 року) з дотриманням вимог Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 2010/63/ ЄУ, Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорсткого поводження», етичним вимогам згідно наказу МОЗ України № 231 від 01. 11. 2000 року [13, 14].

Матеріал для досліджень забирали в кінці експерименту після евтаназії і автопсії. Печінка щурів була об'єктом морфологічного дослідження. Шматочки тканини печінки фіксували в 10% нейтральному забуференому формаліні, зневоднювали у спиртах висхідної концентрації і заливали в парафін за стандартною методикою, після чого з парафінових блоків виготовляли гістологічні зрізи завтовшки 5 ± 1 мкм, які забарвлювали гематоксилином та еозином для загально оглядового дослідження [15].

Досліджували морфологічні особливості паренхіматозного і стромально-судинного компартменту печінки. Ступінь гепатозу визначали за Kleiner [16]. Також проводили імуногістохімічні дослідження на

гістологічних зрізах з парафінових блоків, призначених для стандартного морфологічного дослідження. Використовувалися моноклональні антитіла для макрофагів CD68 (Клон KP1, DAKO), ендотелію судин CD31 (Клон JC70A, Thermo Fisher scientific) з відповідним контролем і візуалізацією за допомогою системи детекції з хромогеном діамінобензидином [17, 18]. Морфометричне дослідження діаметра судин мікроциркуляторного русла часточки з визначенням показників проводили за допомогою програмного забезпечення Aperio ImageScope v12.3.3 (Leica biosystems, Wetzlar, Німеччина). Для загального дослідження гістологічних препаратів, морфометричного дослідження, мікрофотографування використовували світлооптичний мікроскоп Leica DM 2500 (Leica Microsystems GmbH, Німеччина) з цифровою камерою Leica DFC450 C (Німеччина) та програмним забезпеченням Leica Application Suit Version 3.8.

Статистичну обробку даних проводили в програмі Microsoft Office Excel. Достовірність різниці між групами показниками перевіряли за критерієм Манна-Уїтні $p(U)$, відносні показники – за критерієм Пірсона $p(\chi^2)$. Різниця вважалася статистично значущою при мінімальному рівні значимості $p < 0,05$ [19].

Результати дослідження та їх обговорення.

При макроскопічному дослідженні печінка щурів після 6 тижнів експериментального застосування олії насіння конопель мала червоно-буре забарвлення і не відрізнялася від групи контролю та інтактної групи. Зовнішня поверхня печінки гладенька, блиска, вкрита тоненькою сполучнотканинною капсулою. При аналізі гістологічних препаратів печінки відзначено, що печінка щурів дослідної групи характеризувалася часточковою структурою. Гепатоцити часточок у переважній більшості випадків мали багатогранну форму із зернистою цитоплазмою. Середній діаметр гепатоцитів становив $14,47 \pm 1,55$ мкм. Гепатоцити розташовувалися неправильними рядами, ряди розгалужувалися і напрямлялися від периферії часточки у бік центральної вени. Ядра гепатоцитів округлі з чіткою каріолею і виразними ядерцями та глибками хроматину. Середній діаметр ядер - $7,53 \pm 0,37$ мкм. Серед гепатоцитів зустрічалися двоядерні клітини, діаметр яких досягав 25,68 мкм.

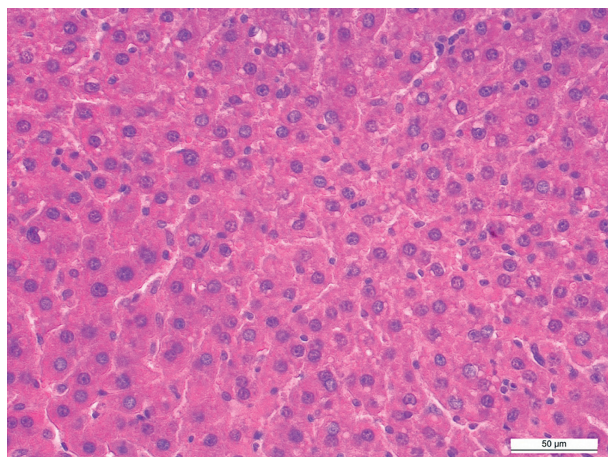


Рисунок 1 – Пилоподібне нагромадження нейтральних жирів у гепатоцитах у проміжній зоні часточки, ступінь стеатозу S0 за Kleiner. Дослідна група конопляної олії з концентрацією 0,5 мл/кг/добу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: $\times 400$.

Детальне гістологічне дослідження показало, що у зразках печінки тварин дослідної групи визначалися окремі гепатоцити з ознаками пилоподібного нагромадження нейтральних жирів і мікроемулькарний стеатоз у $<5\%$ печінкових клітин, що відповідало ступеню гепатозу S0 за Kleiner. Зазначені зміни були в гепатоцитах як на периферії печінкових часточок, так і в центролобулярній зоні (рис. 1). У 3 (21,43[4,74-45,78] %) з 14 випадків нами діагностовано слабкий ступінь стеатозу S1 за Kleiner з пилоподібним нагромадженням нейтральних жирів у 5-33% гепатоцитів і встановлено достовірну різницю з контрольною групою, $p(\chi^2)=0,03$.

Між балками гепатоцитів розміщені синусоїди. Синусоїдний компартмент включав фенестровані ендотеліоцити гемокапілярів, клітини Купфера, перисинусоїдні клітини. Синусоїдні капіляри тонкостінні, на окремих ділянках були дилатовані. Середній діаметр синусоїдів становив $7,24 \pm 1,47$ мкм і достовірно не відрізнявся від контрольної групи ($p=0,16$). Стінки синусоїдних капілярів сформовані за рахунок сплосчених ендотеліальних клітин. Ендотеліоцити можна було визначити по витягнутих базофільних ядрах, що прилягали до стінок синусоїдів і за допомогою імуногістохімічного типування ендотелію маркером CD31 (рис. 2).

У складі стінки синусоїдних капілярів виявлялися зірчасті клітини Купфера, які своїми відростками прикріплювалися до стінки. Це великі зірчастої форми клітини, які є макрофагами печінки і приймають участь у фагоцитозі мікроорганізмів, токсинів і чужорідних речовин. Клітини Купфера були більші за розмірами від ендотеліоцитів, виявлялася їх гіпертрофія (рис. 3). Крім гіпертрофії нами була звернена увага на збільшення кількості клітин Купфера, тобто виявлялася їх гіперплазія у всіх зонах часточки.

Синусоїди впадали в центральні вени, внутрішня стінка центральних вен вистелена ендотелієм з овальними і витягнутими вузькими паличкоподібними ядрами. Центральні (печінкові) вени відносяться до вен безм'язового типу (рис. 4). Середній діаметр центральних вен склав $71,37 \pm 5,41$ мкм і достовірно не відрізнявся від контрольної групи ($p=0,73$). Порушення відтоку крові від печінкових часточок нами не діагностувалося.

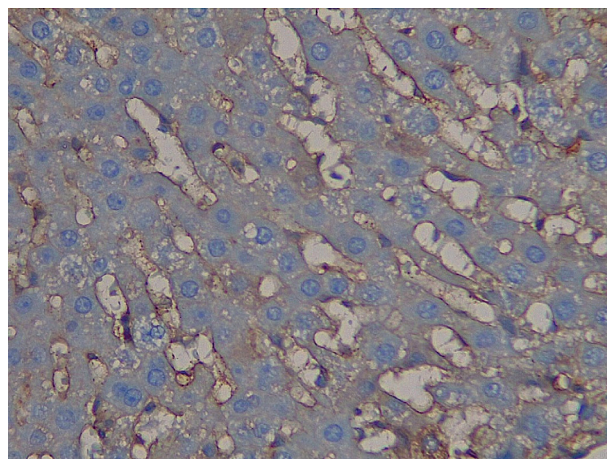


Рисунок 2 – Окремі синусоїдні капіляри дилатовані, ендотелій у синусоїдах збережений. Дослідна група конопляної олії з концентрацією 0,5 мл/кг/добу. ІГХ типування ендотелію за допомогою маркера CD31. Збільшення: $\times 600$.

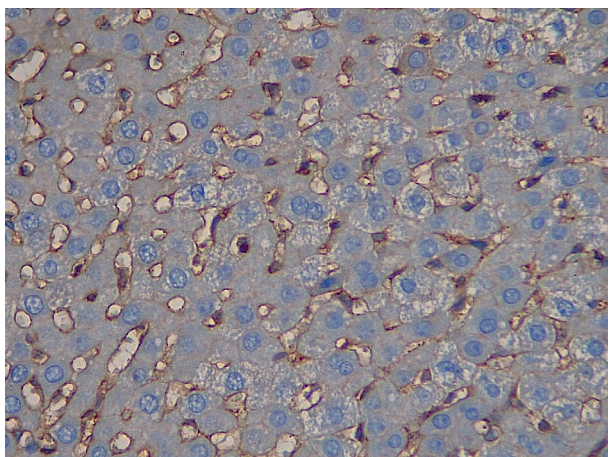


Рисунок 3 – Гіпертрофія клітин Купфера. Окремі гепатоцити з ознаками пілоподібного нагромадження нейтральних жирів і мікроемульсарний стеатоз у проміжній зоні часточки, ступінь стеатозу S1 за Kleiner. Дослідна група конопляної олії з концентрацією 0,5 мл/кг/добу. ІГХ типування клітин Купфера за допомогою маркера CD68. Збільшення: $\times 400$.

Сполучнотканинні прошарки в печінці тварин виражені дуже слабо, складаються з тонких волокон і клітинних елементів, що оточують міжчасточкові кровоносні судини та жовчні протоки у триадах печінки, ознак запального процесу не встановлено (рис. 5). Міжчасточкові вени і печінкові артерії відрізнялися товщиною м'язової оболонки та величиною просвіту. Міжчасточкові вени були найбільшими судинами у складі триад і мали великий просвіт. Середній діаметр міжчасточкових вен дорівнював $45,65 \pm 1,49$ мкм і достовірно не відрізнявся від контрольної групи ($p=0,93$). Їхня м'язова оболонка представлена гладкими міоцитами, а інтима характеризувалася суцільною ендотеліальною вистилкою. Адвентиція міжчасточкових вен розвинена добре. Волокна, що входять до її складу, спліталися з елементами сполучної тканини портального тракту.

Міжчасточкові жовчні протоки вистелені кубічним та низьким призматичним епітелієм з незначно вираженою базальною мембраною. Межі епітеліоцитів добре помітні. Округлі та овальні ядра клітин слабо забарвлені гематоксином, але мають добре окреслену оболонку. Також для жовчних протоків

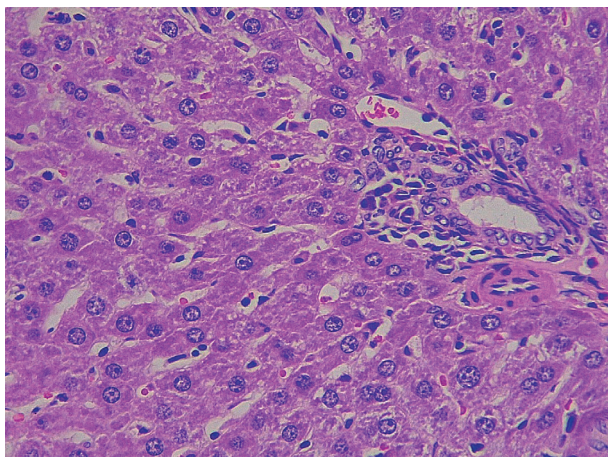


Рисунок 5 – Триада печінкової часточки і синусоїдний компартмент після 6 тижнів експериментального застосування конопляної олії з концентрацією 0,5 мл/кг/добу. Забарвлення гематоксином та еозином. Збільшення: $\times 400$.

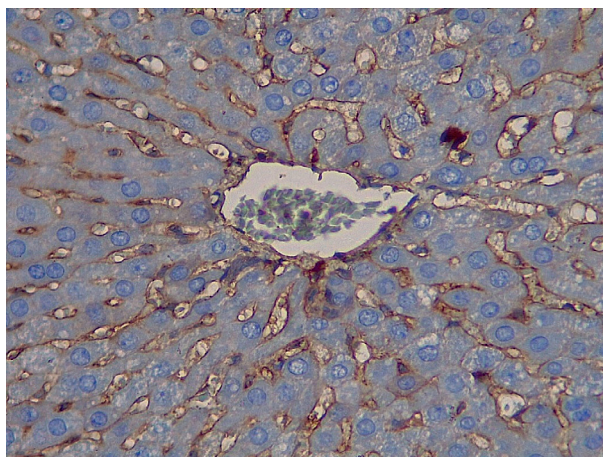


Рисунок 4 – Центральна вена із збереженим ендотелієм, форменні елементи крові у просвіті. Ендотелій у синусоїдах збережений, окремі синусоїди дилатовані. Дослідна група конопляної олії з концентрацією 0,5 мл/кг/добу. ІГХ типування ендотелію за допомогою маркера CD31. Збільшення: $\times 400$.

була характерна наявність чітко вираженої сполучнотканинної оболонки.

Міжчасточкові артерії належать до артерій м'язового типу, мікроскопічно візуалізувався шар гладком'язових клітин, клітини ендотелію без патологічних змін. Міжчасточкова артерія порівняно з міжчасточковою веною має менший діаметр просвіту і товстішу стінку, найбільша питома вага в якій припадає на медію. У складі її стінки візуалізуються три оболонки. Адвентиція характеризується помірним розвитком. М'язова оболонка сформована декількома шарами гладких міоцитів. Ядра міоцитів витягнуті і подовженої форми. При співставленні з даними контрольної та інтактної груп морфологія і морфометрія міжчасточкових артерій у щурів дослідної групи достовірно не відрізнялися ($p>0,05$). Середній діаметр міжчасточкових артерій печінки склав (зовнішній – $27,25 \pm 1,03$ мкм; внутрішній – $17,40 \pm 0,65$ мкм).

Підчасточкові вени утворювалися злиттям центральних вен, розширення їх просвіту і порушення відтоку крові нами не спостерігалось (рис. 6). Підчасточкові і збірні вени характеризувалися тонкою стінкою і збереженим ендотелієм. Середній діаметр підчасточкових вен печінки склав $162,38 \pm 13,4$ мкм, а середній діаметр збірних вен – $321,64 \pm 36,05$ мкм,

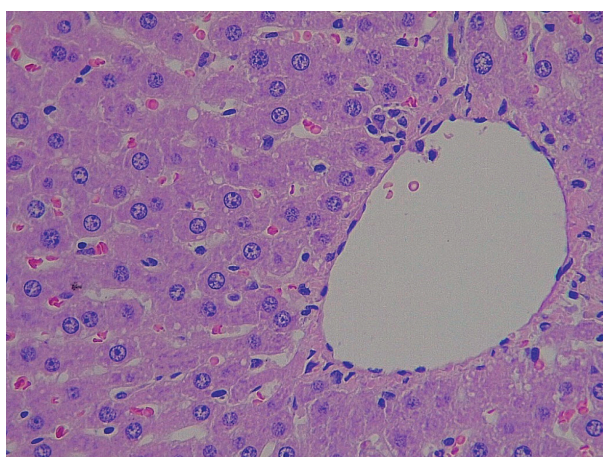


Рисунок 6 – Підчасточкова вена зі збереженим ендотелієм, без патологічних змін. Дослідна група конопляної олії з концентрацією 0,5 мл/кг/добу, ступінь стеатозу S0 за Kleiner. Забарвлення гематоксином та еозином. Збільшення: $\times 400$.

які достовірно не відрізнялися від контрольної групи ($p>0,05$).

Нами було проведено порівняння відносних показників наявності дилатованих і повнокровних судин мікроциркуляторного русла печінки дослідної групи з контрольною. Так, в 1 (7,14[0,01-25,77] %) з 14 випадків діагностувалися одиничні повнокровні міжчасточкові вени і міжчасточкові артерії, але достовірної різниці з контрольною групою нами не встановлено; $p(\chi^2)=0,77$ (для міжчасточкових вен) і $p(\chi^2)=0,79$ (для міжчасточкових артерій). Щодо наявності дилатованих і повнокровних синусоїдів, то у 4 (28,57 [8,85-54,04] %) з 14 спостережень нами було діагностовано незначно дилатовані і повнокровні окремі синусоїди; при порівнянні з контрольною групою різниця була недостатньою, $p(\chi^2)=0,56$. В 1 (7,14[0,01-25,77] %) з 14 спостережень в окремих полях зору діагностувалися одиничні повнокровні центральні вени, достовірність за критерієм Пірсона становила $p(\chi^2)=0,18$, достовірної різниці з контрольною групою не встановлено.

Таким чином, проведено гістологічне, імуногістохімічне та морфометричне дослідження печінки щурів після 6 тижнів експериментального застосування конопляної олії з концентрацією 0,5 мл/кг/добу як дієтичної добавки дозволило встановити особливості гістологічної організації паренхіматозного і стромально-судинного компартменту. За результатами гістологічного дослідження паренхіматозного компартменту встановлено, що у зразках печінки тварин дослідної групи діагностовано ознаки пілоподібного нагромадження нейтральних жирів і мікроевезикулярний стеатоз у <5% гепатоцитів, що відповідало ступеню S0 за Kleiner. Зазначені зміни діагностовано в гепатоцитах як на периферії печінкових часточок, так і в центроlobулярній зоні. У 3 (21,43[4,74-45,78] %) з 14 випадків діагностовано слабкий ступінь стеатозу S1 за Kleiner з пілоподібним і мікроевезикулярним нагромадженням нейтральних жирів у 5-33% гепатоцитів і встановлено достовірну різницю з контрольною групою, $p(\chi^2)=0,03$. Морфологічних ознак запалення і некротичних змін гепатоцитів не виявлено.

Структура судинного компартменту печінки щурів дослідної групи після 6 тижнів експериментального застосування конопляної олії з концентрацією 0,5 мл/кг/добу не зазнавала морфологічних змін. Судини мікроциркуляторного русла печінки збережені, ендотеліоцити чітко візуалізувалися при загально оглядових методах дослідження та імуногістохімічному типуванні ендотелію за допомогою маркера CD31. Не встановлено достовірної різниці середніх показників діаметра судин триад печінки з контрольною групою ($p>0,05$).

Синусоїдний компартмент включав фенестровані капіляри, що склалися з ендотеліоцитів, гіпертрофованих клітин Купфера і перисинусоїдних клітин. Окремі синусоїдні капіляри дилатовані, ендотелій збережений. Середній діаметр синусоїдів становив $7,24\pm 1,47$ мкм і достовірно не відрізнявся від контрольної групи ($p=0,16$).

Отримані дані узгоджуються з нашими попередніми результатами досліджень короткострокового впливу олії насіння конопель на структуру печінки щурів [11] та з дослідженнями інших авторів [20] після годування щурів високо холестериновою дієтою впродовж 8 тижнів. За даними авторів олія насіння конопель мала позитивний вплив на щурів після годування їх високо холестериновою дієтою. Гістологічні ознаки стеатозу печінки зменшилися і спостерігалася позитивна динаміка при застосуванні олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу порівняно з високою дозою олії 1 мл/кг/добу і застосування симвастатину в дозі 10 мг/кг/добу. Реєструвалися знижені рівні АСТ, АЛТ, креатиніну та ЛПНЩ при застосуванні олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу [20]. Відповідно до результатів проведеного нами дослідження олія насіння конопель є потенційно корисною харчовою добавкою.

Висновки.

Було встановлено, що структурна організація паренхіматозного і стромально-судинного компартменту печінки на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель як дієтичної добавки в дозі 0,5 мл/кг/добу не порушена, морфологічних ознак запалення і некротичних змін гепатоцитів не виявлено, мікроевезикулярний стеатоз у <5% гепатоцитів відповідав ступеню S0 за Kleiner і вказував про відсутність паренхіматозної жирової дистрофії печінки.

Морфометричний аналіз судин триад печінки, центральних, підчасточкових і збірних вен, синусоїдів на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу продемонстрував відсутність достовірної різниці між середніми показниками їх діаметрів і відносними показниками наявності дилатації і повнокров'я в дослідній, контрольній групах та інтактних тварин ($p>0,05$), що вказує на безпечність споживання олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу.

Перспективи подальших досліджень.

Необхідні подальші експериментальні дослідження для визначення довгострокового застосування олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу і встановлення особливостей морфологічної організації компонентів паренхіматозного і судинно-стромального компартмента печінки.

References / Література

- Vereshchahin IV, Kandyba NM. Nasinnya konopel (*Cannabis Sativa* L.) yak dzherelo nezaminykh kharchovykh komponentiv. Visnyk Sumskoho natsionalnoho aharnoho universytetu. 2020;2(40):3-13. Dostupno: . [in Ukrainian].
- Martini N. Hempseed oil. Journal of Primary Health Care. 2021;13(4):375-376. DOI: [10.1071/HC19567](https://doi.org/10.1071/HC19567).
- Mygdalia A, Panoras I, Vazanelli E, Tsaliki E. Nutritional and Industrial Insights into Hemp Seed Oil: A Value-Added Product of Cannabis sativa L. Seeds. 2025; 4(1):5. DOI: [10.3390/seeds4010005](https://doi.org/10.3390/seeds4010005).
- Farinon B, Molinari R, Costantini L, Merendino N. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional Quality and Potential Functionality for Human Health and Nutrition. Nutrients. 2020;12(7):1935. DOI: [10.3390/nu12071935](https://doi.org/10.3390/nu12071935).
- Özdemir H, Bakkalbaşı E, Javidipour I. Effect of seed roasting on oxidative stability and antioxidant content of hemp seed oil. J Food Sci Technol. 2021;58(7):2606-2616. DOI: [10.1007/s13197-020-04767-x](https://doi.org/10.1007/s13197-020-04767-x).
- Izzo L, Pacifico S, Piccolella S, Castaldo L, Narváez A, Grosso M, et al. Chemical Analysis of Minor Bioactive Components and Cannabidiolic Acid in Commercial Hemp Seed Oil. Molecules. 2020;25(16):3710. DOI: [10.3390/molecules25163710](https://doi.org/10.3390/molecules25163710).
- Kaushal N, Gupta M, Kulshreshtha E. Hempseed (*Cannabis sativa*) lipid fractions alleviate high-fat diet-induced fatty liver disease through regulation of inflammation and oxidative stress. Heliyon. 2020;6(7):e04422. DOI: [10.1016/j.heliyon.2020.e04422](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04422).

8. Majewski M, Jurgoński A. The Effect of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seeds and Hemp Seed Oil on Vascular Dysfunction in Obese Male Zucker Rats. *Nutrients*. 2021;13(8):2575. DOI: [10.3390/nu13082575](https://doi.org/10.3390/nu13082575).
9. Opyd PM, Jurgoński A, Fotschki B, Juśkiewicz J. Dietary Hemp Seeds More Effectively Attenuate Disorders in Genetically Obese Rats than Their Lipid Fraction. *J Nutr*. 2020;150(6):1425-1433. DOI: [10.1093/jn/nxaa081](https://doi.org/10.1093/jn/nxaa081).
10. Musa EM, EL Badwi SM, Jah Elnabi MA, Osman EA, Dahab MM. Hepatoprotective and toxicity assessment of Cannabis sativa seed oil in Albino rat. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*. 2012;1:69-76. Available from: <https://iscientific.org/wp-content/uploads/2018/02/13-IJCBS-12-1-10.pdf>.
11. Shevchuk MM. Features of morphological organization and assessment of morphometric indicators of the microcirculatory bed of the rat liver during short-term experimental application of hemp seed oil. *Prospects and innovations of science. Series «Medicine»*. 2025;11(57):3797-3815.
12. Reagan-Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J*. 2008;22:659-661. DOI: [10.1096/fj.07-9574LSE](https://doi.org/10.1096/fj.07-9574LSE).
13. Council of Europe. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 52 p.
14. European Parliament. 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.
15. Suvama SK, Layton C, Bancroft GD, editors. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 8th ed. Elsevier; 2019. 558 p. DOI: [10.1016/B978-0-7020-6864-5.00008-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6864-5.00008-6).
16. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2005;41(6):1313-1321. DOI: [10.1002/hep.20701](https://doi.org/10.1002/hep.20701).
17. 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](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_25).
18. Nguyen T. *Immunohistochemistry: A Technical Guide to Current Practices*. Cambridge: Cambridge University Press; 2022. 272 p.
19. Hruzivka TS, Lekhan VM, Ohniev VA, Halienko LI, Kriachkova LV, Palamar BI, et al. *Biostatystyka*. Vinnytsya: Nova knyha; 2020. 384 s. [in Ukrainian].
20. Lee JA, Roh SS, Lee WR, Shin MR. Effect of hemp seed oil on lipid metabolism in rats fed a highcholesterol diet. *J Nutr Health*. 2023;56(4):361-376.

ГІСТОЛОГІЧНА ОРГАНІЗАЦІЯ ПАРЕНХІМАТОЗНОГО І СТРОМАЛЬНО-СУДИННОГО КОМПАРТМЕНТУ ПЕЧІНКИ БІЛИХ ЩУРІВ НА 42-У ДОБУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ОЛІЇ НАСІННЯ КОНОПЕЛЬ

Шевчук М. М., Волос Л. І.

Резюме. Конопляна олія, отримана з насіння промислових конопель *Cannabis sativa* L., є багатим джерелом поліненасичених жирних кислот в ідеальному співвідношенні, джерелом білка, ферментів, токоферолу, фітостеролу, широко використовується в медицині і харчовій промисловості, сприяє зниженню рівня холестерину, ферментів печінки і загалом позитивно впливає на здоров'я.

Мета дослідження – встановити особливості гістологічної організації паренхіматозного і стромально-судинного компартменту печінки білих щурів на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель.

Дослідження було проведене на 26 статевозрілих білих щурах-самцях вагою 180-230 г із дотриманням біоетичних норм. Щоденна доза олії насіння конопель у дослідній групі склала 0,5 мл/кг, у контрольній – 0,1 мл/кг. Визначали морфологічні особливості печінки, судин мікроциркуляторного русла, проводили імуногістохімічні дослідження з використанням моноклональних антитіл для макрофагів CD68 (Клон KP1, DAKO), ендотелію судин CD31 (Клон JC70A, Thermo Fisher scientific) за стандартними методиками. Морфометричне дослідження діаметра судин мікроциркуляторного русла часточки з визначенням показників проводили за допомогою програмного забезпечення Aperio ImageScope v12.3.3 (Leica biosystems, Wetzlar, Німеччина). Статистичну обробку даних проводили в програмі Microsoft Office Excel. Достовірність різниці між груповими показниками перевіряли за критерієм Манна-Уїтні $p(U)$, відносні показники – за критерієм Пірсона $p(\chi^2)$. Різниця вважалася статистично значущою при мінімальному рівні значимості $p < 0,05$.

Було встановлено, що структурна організація паренхіматозного і стромально-судинного компоненту печінки на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель як дієтичної добавки в дозі 0,5 мл/кг/добу не порушена, часточкова архітектура збережена, морфологічних ознак запалення і некротичних змін гепатоцитів не виявлено, у більшості випадків мікровезикулярний стеатоз у $<5\%$ гепатоцитів відповідав ступеню S0 за Kleiner і вказував на відсутність паренхіматозної жирової дистрофії печінки. Морфометричний аналіз судин мікроциркуляторного русла печінки на 42-у добу експериментального застосування олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу продемонстрував відсутність достовірної різниці між середніми показниками їх діаметрів і відносними показниками наявності дилатації і повнокров'я в дослідній, контрольній групах та інтактних тварин ($p > 0,05$), що вказує на безпечність споживання олії насіння конопель в дозі 0,5 мл/кг/добу.

Ключові слова: печінка, мікроциркуляторне русло, гістологія, морфометрія, щури, експеримент, олія насіння конопель.

HISTOLOGICAL ORGANIZATION OF THE PARENCHYMATOUS AND STROMAL-VASCULAR COMPARTMENT OF THE LIVER OF WHITE RATS ON THE 42nd DAY OF EXPERIMENTAL APPLICATION OF HEMP SEED OIL

Shevchuk M. M., Volos L. I.

Abstract. Hemp oil, extracted from the seeds of industrial hemp *Cannabis sativa* L., is a rich source of polyunsaturated fatty acids in an ideal ratio, a source of protein, enzymes, tocopherol, phytosterol, widely used in medicine and the food industry, helps reduce cholesterol levels, liver enzymes and generally has a positive effect on human health.

The aim of the study was to determine the histological features of the parenchymal and stromal-vascular compartments of the liver in white rats on the 42nd day of experimental application of hemp seed oil.

The study was conducted on 26 sexually mature male white rats weighing 180-230 g in compliance with bioethical standards. The daily dose of hemp seed oil in the experimental group was 0.5 ml/kg, in the control group – 0.1 ml/kg. The morphological features of the liver, microcirculatory vessels were determined, and immunohistochemi-

cal studies were performed using monoclonal antibodies for CD68 macrophages (Clone KP1, DAKO) and vascular endothelium CD31 (Clone JC70A, Thermo Fisher Scientific) according to standard methods. Morphometric study of the diameter of the microcirculatory vessels of the lobule with determination of indicators was performed using Aperio ImageScope v12.3.3 software (Leica biosystems, Wetzlar, Germany). Statistical data processing was performed in Microsoft Office Excel. The reliability of the difference between group indicators was tested using the Mann-Whitney U test, and relative indicators were tested using Pearson's chi-square test. The difference was considered statistically significant at a minimum significance level of $p < 0.05$.

It was found that the structural organization of the parenchymal and stromal-vascular components of the liver on the 42nd day of experimental use of hemp seed oil as a dietary supplement at a dose of 0.5 ml/kg/day was not disturbed, the lobular architecture was preserved, no morphological signs of inflammation and necrotic changes in hepatocytes were found, in most cases microvesicular steatosis in $< 5\%$ of hepatocytes corresponded to grade S0 according to Kleiner and indicated the absence of parenchymal fatty degeneration of the liver. Morphometric analysis of the microcirculatory vessels of the liver on the 42nd day of experimental application of hemp seed oil at a dose of 0.5 ml/kg/day showed no significant difference between the average values of their diameters and the relative values of dilation and hyperemia in the experimental and control groups and intact animals ($p > 0.05$), indicating the safety of consuming hemp seed oil at a dose of 0.5 ml/kg/day.

Key words: liver, microcirculatory bed, histology, morphometry, rats, experiment, hemp seed oil.

ORCID and contributionship / ORCID автора та його внесок до статті:

Shevchuk M. M.: <https://orcid.org/0000-0001-7852-5980> ^{ABCD}

Volos L. I.: <https://orcid.org/0000-0002-1733-589X> ^{CEF}

Conflict of interest / Конфлікт інтересів:

The Author declares no conflict of interest / Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Corresponding author / Адреса для кореспонденції

Volos Liliya Ivanivna / Волос Лілія Іванівна

State Non-Profit Enterprise «Danylo Halytsky Lviv National Medical University» / Державне некомерційне підприємство «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»

Ukraine, 79010, Lviv, 69 Pekarska str. / Адреса: Україна, 79010, м. Львів, вул. Пекарська 69

Tel.: 0997743810 / Тел.: 0997743810

E-mail: liliya.volos@gmail.com

A – Work concept and design, **B** – Data collection and analysis, **C** – Responsibility for statistical analysis, **D** – Writing the article, **E** – Critical review, **F** – Final approval of the article / **A** – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Received 17.07.2025 / Стаття надійшла 17.07.2025 року
Accepted 10.11.2025 / Стаття прийнята до друку 10.11.2025 року