

РОЗРОБКА СИСТЕМИ ОЦІНКИ МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИХ ЗМІН ПЕЧІНКИ, СПРИЧИНЕНИХ ВПЛИВОМ ШКІДЛИВИХ РЕЧОВИН В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Луговський С. П., Квітницька-Рижова Т. Ю.

ДУ «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України»
м. Київ, Україна

Анотація. Актуальність. При експериментальному вивченні ефектів впливу шкідливих речовин на організм особливого значення набувають результати морфологічних досліджень. Це визначає актуальність необхідності розробки об'єктивних систем оцінки виявлених морфологічних. Система оцінки морфологічних змін печінки дозволяє не тільки визначити ефекти гепатотропної дії шкідливих речовин, але й ефективність засобів профілактики та фармакологічної корекції виявленої патології.

Мета дослідження – розробка для впровадження в практику токсикологічних досліджень ефектів гепатотропної дії шкідливих речовин науково-обґрунтованої системи аналізу та оцінки морфофункціональних змін печінки.

Матеріали та методи дослідження. Зразки печінки мишей C57BL/6j ($n = 40$), які зазнавали підгострої дії STZ (40 мг/кг при внутрішньочеревному введенні, впродовж 5 днів) та щурів Sprague-Dawley ($n = 55$), які впродовж 6 міс. утримувались на ВЖД із вмістом в добовому раціоні жиру 58 %, білків – 23 %, вуглеводів – 10 %. Зміни печінки вивчали при мікроскопічному дослідженні гістологічних препаратів, пофарбованих гематоксидином і еозином, за методом MSB, а також при застосуванні TUNEL-методу.

Результати. При підгострому впливі STZ на мишей і хронічному впливі ВЖД на щурів були виявлені ідентичні за спектром, але різні за ступенем і характером проявів гістологічні зміни, що вказували на розвиток порушень гістоструктури органу, дистрофічно-деструктивних змін і стеатозу гепатоцитів, некрозапальних змін і фіброзу печінки, а також структурних перебудов гепатоцитів компенсаторно-приспосувального характеру.

Висновки: Для об'єктивної оцінки ідентичних за спектром, але різних за ступенем і характером проявів морфологічних змін печінки при різних типах впливу шкідливих речовин було розроблено спосіб і критерії оцінки гістологічних змін печінки на підставі застосування системи балів, від «0» до «3».

Ключові слова: шкідливі речовини; експериментальний вплив; гістологічні зміни печінки; профілактика; фармакологічна корекція.

Вступ. Токсикологічна морфологія так само, як і токсикологічна патологія (*Toxicologic Pathology*) в останні роки набувають важливого значення при дослідженні на моделях *in vivo* ефектів біологічної дії та шкідливого впливу речовин. Особливого значення результати цих досліджень набувають для профілактичної та лікарської токсикології, бо визначають ефекти впливу різних речовин на субклітинному, клітинному, тканинному, органному і системному рівнях, характер, механізми та закономірності розвитку патології під впливом різних доз і концентрацій речовин, а також тривалості та способів їх надходження в організм. Це створює підґрунтя, як для визначення небезпеки різних речовин, так і розробки засобів профілактики та фармакологічної корекції патології, що формується від впливу шкідливих речовин [2].

Слід зазначити, що в останні десятиліття результати морфологічних досліджень також широко використовуються для оцінки ефектів дії речовин із високою біологічною активністю, що є потенційними засобами для профілактики та фармакологічної корекції патології, обумовленої впливом шкідливих речовин. У повній мірі це стосується патології печінки. Експериментальні дослідження з вивчення ефектів гепатотропної дії речовин, а також оцінка ефективності засобів профілактики та фармакологічної корекції патології печінки вимагають від дослідників використання сучасних методів об'єктивної оцінки гістологічних змін печінки. При цьому, результати такої оцінки мають піддаватись екстраполяції з експерименту, проведеного на лабораторних тваринах на дані результатів, отриманих на людях в ході проведення клінічних досліджень [10]. Зокрема, в клінічній практиці для гістологічної оцінки біопсії печінки використовується відносно проста система IASL, яка запропонована Міжнародною асоціацією з вивчення печінки (*International Association for the Study of the Liver*). Разом із цим поширеними є більш складні системи гістологічної оцінки печінки, зокрема, система Knodell R. G. (1981), Ishak K. G. (1995), Batts K. P. і Ludwig J. (1995), а також METAVIR, удосконалена шкалою Bedossa P. (1996).

Таким чином, актуальність цього дослідження обумовлена необхідністю розробки та впровадження в практику експериментальних токсикологічних досліджень системи аналізу та оцінки гістологічних змін печінки при дослідженні ефектів гепатотропної дії шкідливих речовин, придатної також для оцінки ефективності засобів для профілактики та фармакологічної корекції патології печінки, обумовленої впливом на організм шкідливих речовин.

Мета дослідження – розробка і впровадження в практику експериментальних токсикологічних досліджень з вивчення ефектів гепатотропної дії

шкідливих речовин науково-обґрунтованої системи аналізу та оцінки морфофункціональних змін печінок.

Об'єкт та методи дослідження. Об'єктом для дослідження були зразки печінки мишей лінії *C57BL/6j* ($n=40$) та щурів лінії *Sprague-Dawley* ($n=55$), отримані після підгострого (1 міс) впливу стрептозоточину (STZ) на організм мишей та хронічного (6 міс) впливу високожирової дієти (ВЖД) на організм щурів. STZ (*Streptozotocin*; CAS № 18883-66-4; хімічна формула: $C_8H_{15}N_3O_7$) є похідною нітрозосечовини, природним антибіотиком, продуцентом *Streptomyces aerotogenes*. Механізм дії STZ визначається його здатністю впливати на процеси метилювання ДНК, що обумовлює ефект його протипухлинної дії. Також STZ є донором оксиду азоту (NO), що обумовлює ефект його кардіовазотоксичної дії, а також він є індуктором апоптозу, зокрема, β -інсулоцитів, що визначає ефект його діабетогенної дії. Натомість ВЖД із високим вмістом в добовому раціоні жиру (60–75 %) спричинює порушення обміну речовин (білків, жирів і вуглеводів) і є фактором ризику метаболічного синдрому (МС), інсулінової резистентності та цукрового діабету (ЦД).

Експерименти були проведені із дотриманням чинних положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (*European Convention, Strasbourg, 1986*), а також статті 26 Закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» (№ 3447-IV, *ом 21.02.2006 з*).

Ефект шкідливого впливу STZ вивчали на моделі підгострого (30 діб) впливу на мишей. Для цього використовували розчин STZ ("Sigma", США) в 0,1 М цитратному буфері (pH 5), який щодня, впродовж 5 діб вводили в черевну порожнину мишей в дозі 40,0 мг/кг. Ефект шкідливого впливу ВЖД вивчали в хронічному (6 міс.) експерименті на щурах. Для цього тварин утримували в умовах віварію на ВЖД, де вміст жирів в добовому раціоні дорівнював 58 %, білків – 23 %, а вуглеводів – 10 %. В якості контролю були використані інтактні миші та щури, яких утримували в стандартних умовах віварію на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до водогінної води, що відстоювалася 24 год. В експерименті також було використано групу порівняння. Вона складалася із щурів, які впродовж 6 міс. утримувалися на ВЖД, але додатково, щомісяця, впродовж 10 днів (5 днів на тиждень) отримували в шлунок, за допомогою зонду 1,0 мл водної суспензії NSE у дозі 50 мг/кг. NSE – *N*-стероїлетаноламін, біологічно активна речовина, що відноситься до класу міnorних ліпідів, родини *N*-ацилетаноламінів. NSE проявляє ефект мембраностабілізуючої, протизапальної, антиоксидантної дії, а також вираженої антидисліпідемічної дії.

З експерименту тварин виводили шляхом декапітації після попередньої наркотизації нембуталом (50 мг/кг маси). Зразки печінки фіксували 72 год. в розчині 10 % забуференого формаліну, промивали у воді, зневоднювали в порціях етанолу (70 %, 80 %, 96 %, 100 %), просвітлювали в 2-х порціях ксилолу та ущільнювали в парафін (Paraplast®) згідно стандартного протоколу [1]. Гістологічні зрізи, товщиною 5 мкм, виготовлені за допомогою мікротому HM 325 (Microm, Німеччина) фарбували гематоксиліном і еозином, а також за методом *MSB* (метод Picro-Mallory у модифікації Зербіно-Лукаевич для виявлення сполучної тканини). Апоптоз клітин виявляли за допомогою методу *TUNEL* і реагентів AporTag® Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (“Chemicon”, США). Гістологічні дослідження проводили за допомогою мікроскопу “Olympus BX51” (Японія). Виявлені зміни фотографували за допомогою камери “Olympus C5050-zoom” і програми “Olympus DP-Soft 3.2”.

Результати. При підгострому впливі STZ в печінці мишей спостерігали ділянки з порушенням характерної балкової будови, а також венозне повнокров’я органу на тлі дистрофічних, некротичних змін і апоптозу ендотелію синусоїдних капілярів та центральних вен. Як відповідь на пошкодження кровоносних судин спостерігали ендотеліт, венуліт, а в окремих випадках – артеріїт. При впливі STZ в печінці відмічали дистрофічні зміни гепатоцитів у вигляді інтрацелюлярного набряку, гідропічної, вакуольної та балонної дистрофії клітин, а також стеатозу та білкової дистрофії гепатоцитів. Разом із дистрофічними змінами гепатоцитів спостерігали їх апоптоз (апоптозні тільця та збільшення кількості *TUNEL*-позитивних клітин) та некроз (моноцелюлярний, фокальний, східчастий, зональний і ацинарний) із вогнищами запальної лімфоцитарної або лімфомакрофагальної інфільтрації на місці загиблих клітин.

Слід відмітити, що уражені стеатозом гепатоцити найбільш часто спостерігали в перивенулярній зоні печінкових часточок (3-тя зона печінкових ацинусів) у формі макро- або мікровезикулярного стеатозу. На тлі таких дистрофічно-деструктивних і запальних змін у печінці, в окремих її ділянках відмічали гіперплазію та гіпертрофію колагенових волокон, що вказувало на перигепатоцелюлярний і перисинусоїдальний фіброз. Це узгоджується з даними літератури, про здатність STZ спричиняти не тільки стеатоз гепатоцитів, але й розвиток стеатогепатиту (СТГ) та фіброзу печінки (ФП), які спостерігаються при ЦД і хронічній неалкогольній жировій хворобі печінки (НАЖХП) [7].

Необхідно відмітити, що під впливом STZ разом із дистрофічно-деструктивними змінами гепатоцитів (внутрішньоядерні включення, гетерохроматизація та пікноз ядра) виявляли структурні перебудови клітин, що

вказують на розвиток компенсаторно-приспосувальних реакцій, спрямованих на підтримку частково втрачених функцій органу. Це такі зміни як: гіпертрофія цитоплазми та ядра гепатоцитів, а також гіперплазія та гіпертрофія ядерця; ускладнення контуру ядерної мембрани, завдяки чому збільшується площа контакту ядра і цитоплазми та покращується обмін між ними; гіперплазія 2-х ядерних гепатоцитів і збільшення у паренхімі кількості фігур мітозів.

При вивченні ефектів хронічного впливу ВЖД на організм щурів морфологічні зміни печінки за їх спектром і характером у більшості випадків були такими самими, як і при підгострому впливі STZ на організм мишей. В печінці щурів так само відмічали дистрофічно-деструктивні зміни гепатоцитів, порушення кровообігу, некрозапальні зміни, фіброз, а також компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів. Натомість токсичні властивості STZ і ВЖД, як фактору порушення обміну речовин (білків, жирів і вуглеводів) обумовлювали відмінності гістологічних проявів ефектів їх шкідливої дії на організм.

Було встановлено, що хронічний вплив ВЖД на організм щурів викликав в печінці порушення характерної балкової будови внаслідок порушення кровообігу, у вигляді розширення та повнокров'я просвітів центральних вен і синусоїдних капілярів, а також жирової емболії на тлі змішаної макро-мікроевезикулярної форми стеатозу гепатоцитів. При цьому в печінці відмічали увесь спектр дистрофічно-деструктивних змін гепатоцитів, який визначався в печінці мишей при впливі STZ. Натомість при хронічному впливі ВЖД в печінці виявляли ділянки зі значним розширенням просвітів синусоїдних капілярів і формуванням кавернозоподібних порожнин, які були заповнені кров'ю, великою кількістю лімфоцитів і макрофагів із пінистою цитоплазмою, а також світлими включеннями ліпідів. За таких умов ендотелій, що вистеляє внутрішню поверхню кровоносних судин зазнавав дистрофічно-деструктивних змін. Як реакцію у відповідь на пошкодження стінки кровоносних судин в печінці відмічали ендотеліт, венулит, а інколи й артеріїт.

Відомо, що мікроевезикулярний стеатоз гепатоцитів асоціюється з прогресуючим характером перебігу СГ і НАЖХП, що спричинюють фіброз і цироз печінки. Імовірно, що з цим були пов'язані некрозапальні зміни печінки, які часто виявляли у щурів при хронічному впливі ВЖД. Ці зміни проявлялися вогнищами фокального, східчастого, зонального та ацинарного некрозу, а в окремих випадках, субмасивного та масивного некрозу внаслідок загибелі більшості або навіть всіх гепатоцитів печінкової часточки. Як наслідок таких змін у печінці виявляли дрібні ділянки перигепатоцелюлярного,

перисинусоїдального, а також перивенулярного фіброзу, що за даними E. Brunt характерно для стадії F1 фіброзу при НАЖХП [3].

На підставі аналізу морфологічних змін печінки піддослідних мишей і щурів за умов підгострого впливу STZ та хронічного впливу ВЖД було визначено найбільш значимі для гістологічної оцінки патерни порушень структурно-функціональної організації печінки, зокрема: порушення гістоструктури печінки; стеатоз гепатоцитів; некрозапальні зміни та фіброз, а також компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів. Разом із цим, на підставі даних літератури [4; 5; 8; 9; 3; 13], а також результатів власних досліджень було визначено критерії для експертної оцінки гістологічних змін печінки із застосуванням системи балів, від «0» до «3».

Порушення гістоструктури печінки оцінювали як: «0» – зміни відсутні; «1» – зміни незначні (охоплюють 3–5 % площі); «2» – зміни помірні (охоплюють – 1/3 площі); «3» – зміни виражені (охоплюють 2/3 площі та більше).

Порушення кровообігу в печінці оцінювали як: «0» – зміни відсутні; «1» – розширення та повнокров'я просвітів поодиноких центральних вен і синусоїдних капілярів; «2» – за наявності розширення і повнокров'я центральних вен і синусоїдних капілярів в останніх відмічається формування кавернозоподібних порожнин заповнених кров'ю, скупченнями лейкоцитів, лімфоцитів і макрофагів; «3» – на тлі змін, що відповідають «2» балам – спостерігається емболія та/або тромбоз, а нерідко у відповідь на пошкодження стінки кровоносних судин – венулит, капілярит, артеріїт.

Стеатоз гепатоцитів оцінювали як: «0» – відсутній (можливо уражено <5 % гепатоцитів); «1» – легкий (макро- або мікроезичулярний стеатоз із ураженням 5–33 % гепатоцитів перивенулярної зони); «2» – помірний (макро- або мікроезичулярний стеатоз із ураженням 33–66 % гепатоцитів перивенулярної зони та/або змішаний стеатоз із ураженням 1–5 % гепатоцитів); «3» – виражений або важкий (макро- або мікроезичулярний стеатоз із ураженням >66 % гепатоцитів та/або змішаний стеатоз із ураженням >5 % гепатоцитів).

Некрозапальні зміни печінки визначали, як: «0» – відсутні; «1» – легкі (моноцелюлярний некроз, вогнища запальної інфільтрації відсутні або не більше 1); «2» – помірні (фокальний та/або ступінчастий некроз і вогнища запальної інфільтрації у кількості 1–2, іноді із відсутньою або помірною запальною інфільтрацією порталних трактів); «3» – виражені або важкі (зональний або ацінарний некроз, іноді масивний із вогнищами запальної інфільтрації у кількості >2, що також охоплюють порталні тракти).

Для оцінки некрозапальних змін печінки визначали вид некрозу згідно критеріїв, наведених у таблиці (табл. 1), а також на рисунку (рис. 1).

Як відповідь на пошкодження гепатоцитів, а також ендотелію кровоносних судин відмічали лобулярне, перипортальне та портальне запалення, а також ендотеліт і венуліт.

Таблиця 1

Морфологічна характеристика видів некрозу печінки

Вид некрозу	Характеристика некрозу
Моноцелюлярний	Вогнищевий, розсіяний
Фокальний	Один або декілька сусідніх гепатоцитів у різних зонах ацинуса
Східчастий	Група перипортальних або перисепатльних гепатоцитів
Зональний / ацинарний	Гепатоцити 3-ї зони або всього ацинуса
Мостоподібний	Центро-центральный; центро-портальний; порто-портальний
Субмасивний і масивний	Загибель більшості або всіх гепатоцитів печінкової часточки

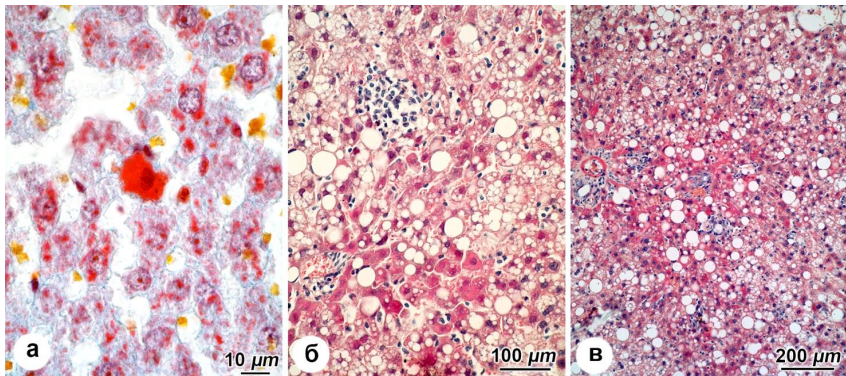


Рис. 1. Морфологічна характеристика некрозу печінки:
а – моноцелюлярний некроз; **б** – фокальний некроз;
в – східчастий некроз. На тлі макро- та змішаного
макромікроевезикулярного стеатозу гепатоцитів, на місці загиблих
клітин відмічаються вогнища запальної лімфоцитарної інфільтрації.
Фарбування: **а** – за методом MSB; **б, в** – гематоксилін і еозин

Фіброз печінки характеризували, як: «0» – відсутній; «1» – легкий (поодинокі вогнища перигепатоцелюлярного або перисинусоїдального

фіброзу); «2» – помірний (вогнища перигепатоцелюлярного, пери-синусоїдального фіброзу); «3» – виражений або важкий (вогнища перигепатоцелюлярного, перисинусоїдального та перивенулярного фіброзу).

На етапі оцінки фіброзу брали до уваги, що різний ступінь розвитку перипортального, перивенулярного фіброзу характерний для стадії F1 фіброзу при НАЖХП. Натомість перехід до F2 стадії, як правило, асоційований із приєднанням до зазначених типів фіброзу перипортального та/або портального фіброзу, що в більшій мірі характерно для неалкогольного стеатогепатозу [3].

Компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів визначали за відсутності («0» балів) або наявності («1» бал) гіпертрофії клітин (гіпертрофія цитоплазми і ядра, гіперплазія та гіпертрофія ядерець) у більше ніж 1/3 гепатоцитів печінкової часточки, так само збільшення кількості двоядерних гепатоцитів, а також кількості фігур мітозу (більше 3 фігур у 5 полях зору мікроскопу при збільшенні об'єктиву x20, або більше ніж 3% при їх підрахунку на 1000 гепатоцитів).

Слід зауважити, що гостра втрата гепатоцитів часто спричинена токсичним ураженням клітин, зокрема, в умовах проведеного експериментом ліпотоксичної дії шкідливих речовин [6]. У будь-якому випадку компенсаторна проліферація гепатоцитів відбувається паралельно із запальним процесом, що забезпечує процеси елімінації пошкоджених клітин та їх репарації [11]. При цьому, як відомо, важливу роль у регенерації печінки відіграє поліплоїдія певної частини гепатоцитів, яка забезпечує швидку активацію проліферації клітин у відповідь на пошкодження. Це обумовлює збільшення в паренхімі органу популяції 2-х ядерних гепатоцитів, які утворюються шляхом мітозу та цитокінезу [12].

Результати гістологічної оцінки морфологічних змін, проведеної із використанням системи розроблених критеріїв і системи балів дозволи виявити особливості та закономірності гепатотропної дії різних за характером і механізмом шкідливої дії STZ і ВЖД за умови їх підгострого та відповідно хронічного впливу на живий організм. Як видно з таблиці (табл. 2) виявлені відмінності визначаються морфологічними змінами таких гістологічних патернів, як: порушення гістоархитектри, порушення кровообігу, стеатоз гепатоцитів і фіброз печінки, що в підсумку характеризується значно більшою кількістю загальної суми балів за умови впливу ВЖД, а ніж впливу STZ.

Натомість такі відмінності в умовах проведеного експерименту можуть бути обумовлені не тільки властивостями досліджуваних речовин, щодо характеризують ефекти їх шкідливої дії, але й видовими відмінностями використаних в експерименті лабораторних тварин, режимом, тривалістю, а також способом введення в організм шкідливих речовин.

Таблиця 2

**Експертна оцінка гістологічних змін печінки за системою балів
у мишей при впливі STZ та у щурів при впливі ВЖД**

Гістологічні зміни печінки (гістологічні патерни)	Оцінка впливу, <i>середній бал</i>		
	STZ	ВЖД	ВЖД+NSE
Порушення гістоструктури	1,8	2,3	0,5
Порушення кровообігу	1,5	2,0	0,5
Дистрофічно-деструктивні зміни гепатоцитів	2,0	2,0	1,0
Стеатоз	1,8	2,6	1,0
Некрозапальні зміни	2,2	2,8	0,9
Фіброз	0,9	1,6	0,3
Компенсаторно-приспосувальні перебудови гепатоцитів	0,9	0,6	1,3
Загальна оцінка (<i>середній бал</i>)	11,9	13,9	5,5

Впровадження та апробацію системи оцінки морфофункціональних змін печінки було проведено в хронічному експерименті з оцінки ефективності фармакологічної корекції шкідливого впливу ВЖД за допомогою NSE. Результати проведеної оцінки, що представлені в таблиці (табл. 2) виявили високу ефективність застосування NSE для профілактики шкідливої дії ВЖД при хронічному впливі на організм. За даними гістологічних досліджень в печінці було відмічено зменшення проявів порушення її балкової будови у наслідок зменшення проявів порушень кровообігу, а також деструктивно-дистрофічних змін гепатоцитів, зокрема, стеатозу і некрозу гепатоцитів, що проявлялося значним зменшенням некрозапальних змін печінки. У наслідок цього помітно зменшувались прояви фіброзу печінки та збільшувалися прояви компенсаторно-приспосувальних перебудов гепатоцитів, спрямованих на компенсацію частково втрачених органом функцій.

Висновки. При вивченні морфологічних змін печінки, спричинених підгострим впливом STZ на організм мишей і хронічним впливом ВЖД на організм щурів, було виявлено ідентичні за спектром, але різні за ступенем і характером проявів гістологічні зміни, що вказували на порушення гістоструктури органу, розвиток стеатозу гепатоцитів, некрозапальних змін і фіброзу печінки, а також компенсаторно-приспосувальних перебудов гепатоцитів.

Для об'єктивної оцінки ідентичних за спектром, але різних за ступенем і характером проявів морфологічних змін печінки при різних типах шкідливих впливів було розроблено критерії та спосіб об'єктивної оцінки гістологічних змін печінки за допомогою системи балів, від «0» до «3».

Впровадження системи оцінки морфофункціональних змін печінки може бути корисним не тільки для оцінки патологічних змін, але й при експериментальній розробці нових підходів до профілактики та лікування різних патологічних станів, що було перевірено нами на прикладі застосування NSE при хронічному впливі ВЖД.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Багрій, М. М. Діброва В. Ф. (Ред.). (2016). Методики морфологічних досліджень: монографія. Вінниця: Нова Книга.
2. Трахтенберг, І. М. (Ред.). (2019). Лікарська токсикологія. Київ : ВД «Авіцена».
3. Brunt, E. M. (2016). Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pros and Cons of Histologic Systems of Evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*. 17 (1), 97. <https://doi.org/10.3390/ijms17010097>
4. Dezső, K. Paku, S. Juhász, M.-M. Kóbori, L. Nagy, P. (2024). Evolutionary view of liver pathology. *Evolutionary Applications*. 17, e70059. <https://doi.org/10.1111/eva.70059>
5. Goodman, Z. D. (2007). Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *Journal of Hepatology*. 47 (4), 598–607. doi: 10.1016/j.jhep.2007.07.006.
6. Hirsova, P. Ibrahim, S. H. Gores, G. J. Malhi, H. (2016). Lipotoxic lethal and sublethal stress signaling in hepatocytes: relevance to NASH pathogenesis. *Journal of Lipid Research*. 57 (10), 1758–1770. doi: 10.1194/jlr.R066357.
7. Jamwal, R., & Barlock, B. J. (2020). Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Hepatic Cytochrome P450 (CYP) Enzymes. *Pharmaceuticals*. 13 (9), 222. <https://doi.org/10.3390/ph13090222>
8. Krishna M. (2017). Patterns of necrosis in liver disease. *Clinical liver disease (Hoboken)*. 30, 10 (2), 53–56. doi: 10.1002/cld.653.
9. Liang, W. Menke, A. L. Driessen, A. Koek, G. H. Lindeman, J. H. Stoop, R.... van den Hoek, A. M. (2014). Establishment of a general NAFLD scoring system for rodent models and comparison to human liver pathology. *PLoS ONE*, 9 (12), e115922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115922>
10. Margiotta-Casaluci, L. Owen, S. F. Winter, M. J. (2024). Cross-Species Extrapolation of Biological Data to Guide the Environmental Safety Assessment of Pharmaceuticals-The State of the Art and Future Priorities. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 43 (3), 513–525. doi: 10.1002/etc.5634.
11. Rodimova, S. Mozherov, A. Elagin, V. Karabut, M. Shchekhin, I. Kozlov, D... Kuznetsova, D. (2023). Effect of hepatic pathology on liver regeneration: The main metabolic mechanisms causing impaired hepatic Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (11), 9112. <https://doi.org/10.3390/ijms24119112>
12. Wilkinson, P. D. Alencastro, F. Delgado, E. R. Leek, M. P. Weirich, M. P. Otero, P. A. ... Duncan, A. W. (2019). Polyploid hepatocytes facilitate adaptation and regeneration to chronic liver injury. *The American Journal of Pathology*, 189, 1241–1255. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.02.008.

13. Yin, X. Guo, X. Liu, Z. Wang, J. (2023). Advances in the diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (3), 2844. <https://doi.org/10.3390/ijms24032844>

REFERENCES

1. Bagrij, M. M. Dibrova V. F. (Red.). (2016). *Metodyky' morfologichnyx doslidzhen: monografiya*. Vinnycya: Nova Knyga.
2. Traxtenberg, I. M. (Red.). (2019). *Likarska toksykologiya*. Kyiv: VD "Avicena".
3. Brunt, E. M. (2016). Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pros and Cons of Histologic Systems of Evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*, 17 (1), 97. <https://doi.org/10.3390/ijms17010097>
4. Dezső, K. Paku, S. Juhász, M.-M. Kóbori, L. Nagy, P. (2024). Evolutionary view of liver pathology. *Evolutionary Applications*, 17, e70059. <https://doi.org/10.1111/eva.70059>
5. Goodman, Z. D. (2007). Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *Journal of Hepatology*, 47 (4), 598–607. doi: 10.1016/j.jhep.2007.07.006
6. Hirsova, P. Ibrahim, S. H. Gores, G. J. Malhi, H. (2016). Lipotoxic lethal and sublethal stress signaling in hepatocytes: relevance to NASH pathogenesis. *Journal of Lipid Research*, 57 (10), 1758–1770. doi: 10.1194/jlr.R066357
7. Jamwal, R., & Barlock, B. J. (2020). Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Hepatic Cytochrome P450 (CYP) Enzymes. *Pharmaceuticals*, 13 (9), 222. <https://doi.org/10.3390/ph13090222>
8. Krishna M. (2017). Patterns of necrosis in liver disease. *Clinical liver disease (Hoboken)*, 30, 10 (2), 53–56. doi: 10.1002/cld.653.
9. Liang, W. Menke, A. L. Driessen, A. Koek, G. H. Lindeman, J. H. Stoop, R... van den Hoek, A. M. (2014). Establishment of a general NAFLD scoring system for rodent models and comparison to human liver pathology. *PLoS ONE*, 9 (12), e115922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115922>
10. Margiotta-Casaluci, L. Owen, S. F. Winter, M. J. (2024). Cross-Species Extrapolation of Biological Data to Guide the Environmental Safety Assessment of Pharmaceuticals-The State of the Art and Future Priorities. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 43 (3), 513–525. doi: 10.1002/etc.5634.
11. Rodimova, S. Mozherov, A. Elagin, V. Karabut, M. Shchechkin, I. Kozlov, D... Kuznetsova, D. (2023). Effect of hepatic pathology on liver regeneration: The main metabolic mechanisms causing impaired hepatic Regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (11), 9112. <https://doi.org/10.3390/ijms24119112>
12. Wilkinson, P. D. Alencastro, F. Delgado, E. R. Leek, M. P. Weirich, M. P. Otero, P. A. ... Duncan, A. W. (2019). Polyploid hepatocytes facilitate adaptation and regeneration to chronic liver injury. *The American Journal of Pathology*, 189, 1241–1255. doi: 10.1016/j.ajpath.2019.02.008
13. Yin, X. Guo, X. Liu, Z. Wang, J. (2023). Advances in the diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (3), 2844. <https://doi.org/10.3390/ijms24032844>

DEVELOPMENT OF A SYSTEM FOR ASSESSING MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN THE LIVER CAUSED BY THE INFLUENCE OF HARMFUL SUBSTANCES IN EXPERIMENTAL

Luhovskiy S. P., Kvitnytska-Ryzhova T. Y.

Abstract. *In the experimental study of the effects of harmful substances on the organism, the results of morphological studies are of particular importance. This determines the relevance of the need to develop objective systems for assessing the identified morphological changes. The system for assessing morphological changes in the liver allows not only to determine the effects of the hepatotropic effect of harmful substances, but also the effectiveness of preventive measures and pharmacological correction of the pathology.*

Research objective – development of a scientifically based system for the analysis and assessment of morphofunctional changes of liver for the implementation in practice of toxicological studies of the effects of hepatotropic action of harmful substances.

Materials and methods. Liver samples from C57BL/6j mice (n = 40) exposed to subacute STZ (40 mg/kg intraperitoneally for 5 days) and Sprague-Dawley rats (n = 55) maintained on a chow diet for 6 months with a daily diet containing 58 % fat, 23 % protein, and 10 % carbohydrates. Liver changes were studied by microscopic examination of histological preparations stained with hematoxylin and eosin using the MSB method, as well as using the TUNEL method.

Results. With subacute exposure to STZ in mice and chronic exposure to VZD in rats, histological changes identical in spectrum but different in degree and nature of manifestations were detected, indicating the development of organ histostructural disorders, dystrophic-destructive changes and steatosis of hepatocytes, necroinflammatory changes and liver fibrosis, as well as structural rearrangements of hepatocytes of a compensatory-adaptive nature.

Conclusions: For an objective assessment of morphological changes in the liver, which are identical in spectrum but different in degree and nature, under different types of exposure to harmful substances, a method and criteria for assessing histological changes in the liver were developed based on the use of a scoring system from «0» to «3».

Key words: harmful substances; experimental exposure; histological changes in the liver; prevention; pharmacological correction.

Луговський Сергій Павлович ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3948-7026>,
+38 (066)308 86 12, +38 (067)322 10 47, lugsp61@gmail.com

Квітницька-Рижова Тетяна Юріївна ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8746-5024>