

Асоціація морфологічних проявів запальних захворювань кишечника з біохімічними маркерами запалення

М. В. Стойкевич^{id B,E,F}, Ю. А. Гайдар^{id C,E}, Д. Ф. Милостива^{id *A-D},
І. А. Кленіна^{id A-C}, О. М. Татарчук^{id B,C}, В. А. Карачинова^{id B,C}

ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – визначити морфологічні, морфометричні зміни будови слизової оболонки товстого кишечника та їх взаємозв'язок із вмістом коротколанцюгових летких жирних кислот і фекального кальпротектину в пацієнтів із запальними захворюваннями кишечника.

Матеріали та методи. Обстежили 68 пацієнтів із запальними захворюваннями кишечника: 30 жінок і 38 чоловіків віком 20–66 років. 3-поміж них у 55 хворих діагностували неспецифічний виразковий коліт (НВК), у 13 – хворобу Крона. Під час гістологічного дослідження оцінювали зміни слизової оболонки товстого кишечника. Коротколанцюгові леткі жирні кислоти в калі визначали за допомогою газової хроматографії. Вміст кальпротектину в зразках калу оцінювали за допомогою імуноферментного аналізу.

Результати. Виявили значущі кореляційні зв'язки між порушенням епітелію та змінами архітектури крипт, щільністю інфільтрації та гістологічною активністю. Вищий ступінь запалення в пацієнтів із тяжким перебігом поєднується з нижчим рівнем тканинного неспецифічного захисту, що визначається кількістю келихоподібних клітин, еозинофілних та нейтрофілних лейкоцитів. Встановлено зниження концентрації масляної кислоти в калі хворих на неспецифічний виразковий коліт і хворобу Крона порівняно з контролем, але більш значуще зниження виявили в пацієнтів із тяжким ступенем перебігу НВК.

Результати показали асоціацію між запальними захворюваннями кишечника та вмістом коротколанцюгових летких жирних кислот, фекального кальпротектину в копрофільтраті. Це підтверджено кореляційними зв'язками між зниженим вмістом коротколанцюгових летких жирних кислот та еозинофільною інфільтрацією ($r = -0,412$; $p < 0,05$); рівнем фекального кальпротектину та тяжкістю захворювання ($r = 0,589$; $p = 0,001$), атрофією ($r = 0,458$; $p < 0,05$), щільністю інфільтрації ($r = 0,434$; $p < 0,05$).

Висновки. Для всіх хворих на запальні захворювання кишечника характерна специфічна гістологічна картина, що відбивала різні ступені запалення. Морфометричні показники точніше показують суттєві атрофічні зміни слизової оболонки товстого кишечника. Результати підтвердили асоціацію між запальними захворюваннями кишечника та вмістом коротколанцюгових летких жирних кислот і кальпротектину в копрофільтраті.

Ключові слова:

гістологічне дослідження, неспецифічний виразковий коліт, хвороба Крона, кальпротектин, коротколанцюгові леткі жирні кислоти.

Запорізький медичний журнал.
2022. Т. 24, № 6(135).
С. 665-673

*E-mail:
mylostivad@i.ua

Association between morphological manifestations of inflammatory bowel disease and biochemical markers of inflammation

M. V. Stoikevych, Yu. A. Haidar, D. F. Mylostyva, I. A. Klenina,
O. M. Tatarchuk, V. A. Karachynova

Aim. To determine morphological and morphometric changes in the structure of the mucous membrane of the large intestine and their relationship with the content of short-chain volatile fatty acids and fecal calprotectin in patients with inflammatory bowel disease.

Materials and methods. We examined 68 patients with inflammatory bowel disease, including 30 women and 38 men aged 20–66 years, 55 patients were with ulcerative colitis and 13 patients – with Crohn's disease. Histological examination focused on changes in the mucous membrane of the large intestine. Determination of short-chain volatile fatty acids in feces was performed using gas chromatography. Calprotectin content was measured in fecal samples by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results. Significant correlations were found between epithelial disruption and changes in crypt architecture, infiltration density, and histological activity. The higher degree of inflammation in patients with severe course was combined with a lower level of tissue nonspecific protection, which was detected by the number of goblet cells, eosinophilic and neutrophilic leukocytes. There was a decrease in the fecal concentration of butyric acid in patients with nonspecific ulcerative colitis and Crohn's disease compared with controls, but a more significant decrease was observed in patients with severe nonspecific ulcerative colitis.

The data have confirmed the association between inflammatory bowel disease and the content of short-chain volatile fatty acids, fecal calprotectin in coprofiltrate, which was evidenced by the presence of correlations between low content of short-chain volatile fatty acids and eosinophilic infiltration ($r = -0.412$; fecal calprotectin levels and disease severity ($r = 0.589$; $P = 0.001$), atrophy ($r = 0.458$; $P < 0.05$), infiltration density ($r = 0.434$; $P < 0.05$).

Conclusions. All patients with inflammatory bowel disease are characterized by a specific histological picture, which reflected the different degrees of inflammation. Morphometric parameters more accurately show significant atrophic changes in the mucous membrane of the large intestine. The data have confirmed the association between inflammatory bowel disease and the content of short-chain volatile fatty acids and calprotectin in coprofiltrate.

Key words:

histology, nonspecific ulcerative colitis, Crohn's disease, calprotectin, short-chain volatile fatty acids.

Zaporozhye medical journal
2022; 24 (6), 665-673

Неспецифічний виразковий коліт (НБК) та хвороба Крона (ХК) – запальні захворювання кишечника (ЗК). Зокрема, НБК характеризується неспецифічним поверхневим запаленням слизової оболонки (СО) тільки товстого кишечника (ТК), а ХК – трансмуральним запаленням будь-якого відділу травного тракту [1].

НБК частіше діагностують у чоловіків, перший пік захворюваності припадає на вік 20–40 років, другий пік – на вік після 55 років. Загальна захворюваність на НБК у світі становить 27–117 випадків на 100 тис. населення, а частота вперше встановленого НБК – 8–10 випадків на 100 тис. населення на рік. ХК – захворювання, що вражає здебільшого молоде населення (20–30 років), частіше його діагностують у жінок [2,18]. У 30–50 % випадків ЗК може маніфестувати в дитячому віці [4].

Зазвичай ЗК оцінюють із позицій генетичної схильності та вважають багатофакторним захворюванням [3,14]. Етіологія НБК і ХК залишається невідомою. Більшість дослідників вважають, що в основі патогенезу – вплив власної кишкової мікрофлори за умов зміни імунологічної толерантності до неї [8]. У багатьох роботах підкреслено роль певної мікробіоти, наприклад сегментоядерних нитчастих бактерій, у визначенні співвідношення Т-хелперних клітин у кишечнику [6,10]. Сучасні уявлення про патогенез ЗК пов'язані з утратою толерантності до власної мікрофлори кишечника, що призводить до ініціації антимікробної запальної відповіді імунними клітинами кишечника [7,9].

Отже, можна стверджувати, що хронічне запалення при ЗК може бути результатом порушення імунологічної толерантності до власної кишкової мікробіоти в осіб, які мають генетичну схильність [11,12].

Зміни кількісного складу мікрофлори кишечника залежать від локалізації запалення, активності патологічного процесу та ступеня тяжкості захворювання [16]. Це пов'язано з тим, що в різних відділах товстого кишечника домінують різні популяції мікроорганізмів, а синтез, утилізація й абсорбція коротколанцюгових легких жирних кислот (КЛЖК) у різних відділах кишечника також відбуваються за різними механізмами [5,12,19].

КЛЖК – слабкі органічні кислоти з різною кількістю молекул вуглецю (від 2 до 5), включаючи ацетат (C_2), пропіонат (C_3), бутират (C_4) і валерат (C_5), що утворюються шляхом кишкової бактеріальної ферментації передусім неперетравлених харчових вуглеводів (особливо стійкі – крохмалі та харчові волокна). Коефіцієнт концентрації в просвіті ТК трьох основних КЛЖК становить приблизно 3:1:1 – 60 % ацетату, 25 % пропіонату і 15 % бутирату. Останній є переважним джерелом енергії для епітеліальних клітин ТК, лише невелика частка бутирату потрапляє до воротної вени або системного кровообігу [15,20]. Жирні кислоти з коротким ланцюгом забезпечують важливе джерело енергії для колоноцитів через внутрішньоклітинний шлях β -окиснення. Кінцеві реакції окиснення передбачають утворення кетонів тіл і CO_2 . Понад 70 % споживання кисню колоноцитами пов'язане з окисненням бутирату, і це є метаболічними відмінностями між СО товстого та тонкого кишечника.

Здійснили чимало досліджень, у яких довели вплив масляної кислоти на концентрацію медіаторів запалення та її лікувальні властивості. В дослідженні на мишах встановили, що рівні мРНК прозапальних цитокінів (IL-6,

TNF- α та IFN- γ) помітно знижувались при лікуванні бутиратом. Вивільнення кальпротектинів (S100A8 і S100A9) та LCN2 як маркерів рецидиву ЗК також істотно зменшувалось під впливом масляної кислоти [21].

Показано також, що активне запалення впливає на використання масляної кислоти. Експресія переносників бутирату SLC16A1 і ABCG2 разом із ферментом ACADS значно знижена в біоптатах ТК при ЗК [22]. Коротколанцюгові жирні кислоти можуть також регулювати експресію запальних цитокінів і хемокінів епітеліальними клітинами ТК у різних імунних процесах, відіграючи роль у гомеостазі кишечника та сприяючи цілісності кишкового бар'єра [13,17].

Багато наукових робіт присвячені ролі бутирату в підтримуванні цілісності кишкового епітелію шляхом регуляції експресії білків щільного з'єднання, а також синтезу кишкового слизу. Як інгібітор гістонової деацетилази бутират може змінювати експресію генів або запускати апоптичні процеси [23,26].

Останнім часом фекальний кальпротектин (ФК) набув важливого значення як діагностичний фактор ЗК [19]. Виявили помірну, але статистично значущу кореляцію між рівнями кальпротектину в сироватці крові та рівнями С-реактивного білка в пацієнтів із НБК. Визначили також, що у хворих на НБК рівень кальпротектину в калі суттєво підвищується, має щільний кореляційний зв'язок з ендоскопічною, клінічною активністю та лабораторними показниками [24,27,28].

Отже, мікробіологічне дослідження біоптатів стінки кишечника у хворих на ЗК, що доповнює гістологічний діагноз, дає змогу деталізувати причину виникнення патології, допоможе під час вибору методу лікування та моніторингу успішності призначеної терапії.

Мета роботи

Визначити морфологічні, морфометричні зміни будови слизової оболонки товстого кишечника та їх взаємозв'язок із вмістом коротколанцюгових легких жирних кислот і фекального кальпротектину в пацієнтів із запальними захворюваннями кишечника.

Матеріали і методи дослідження

Обстежили 68 пацієнтів із ЗК: 30 жінок і 38 чоловіків віком 20–66 років. Хворі перебували на лікуванні в стаціонарі ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України». Діагноз встановили, ґрунтуючись на результатах ендоскопічних досліджень ТК, що виконували всім пацієнтам за відомими методиками, застосували відеоколоноскоп Pentax EC-380LKp (Японія) [29,30].

Пацієнтів поділили на групи залежно від нозології: 55 хворих на НБК та 13 пацієнтів із ХК. Залежно від тяжкості перебігу захворювання (визначили за Mayo Scoring System – індекс Мейо) розрізняли підгрупи хворих на НБК: 11 осіб – легкий перебіг; 39 – середній ступінь; 5 пацієнтів – тяжкий НБК. За індексом Беста (CDAI) 7 пацієнтів із групи ХК мали середній ступінь, 6 осіб – тяжкий перебіг патології.

Мета ендоскопічного обстеження ТК (крім встановлення діагнозу) – детальне оцінювання СО ТК, одержання біопсійного матеріалу для морфологічного

й морфометричного досліджень. За допомогою гістологічних методів вивчали загальну гістоструктуру СО ТК, визначали характер, глибину і тяжкість патологічних змін. Для з'ясування гістоструктурних змін колонобіоптатів визначали наявність муцинового шару, цілісність епітелію, стан архітектоники крипт, наявність ерозій, крипт-абцесів, щільність і склад клітинного інфільтрату.

Морфологічні та морфометричні дослідження здійснили в лабораторії патоморфології ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України».

Для виготовлення парафінових гістологічних препаратів матеріал фіксували в 10,0 % розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спиртах висхідної концентрації, заливали в парафін. Для вивчення загальної гістологічної структури СО зрізи колонобіоптатів завтовшки 5–7 мкм, що нарізали за допомогою ротарійного мікротома РМ60-ЕКА, забарвлювали за стандартною методикою гематоксилін-еозин.

Для морфометричного дослідження зрізи фотографували за допомогою світлового мікроскопа XSZ-21 (Micro Med, Україна), вимірювали за допомогою програмного забезпечення ImageJ 1.45S (National Institutes of Health, США). Морфометричні дослідження гістологічних препаратів передбачали вимірювання глибини крипт (мкм), висоти поверхневого епітелію (мкм), висоти епітелію крипт (мкм), визначення кількості келихоподібних клітин епітелію крипт на 100 клітин, щільність клітинного інфільтрату та кількість еозинофільних, нейтрофільних лейкоцитів (на 1 мм² стромы).

КЛЖК і ФК досліджували в науково-дослідному секторі ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України».

Концентрацію КЛЖК у калі визначали за допомогою апаратно-програмного комплексу для медичних досліджень, використовуючи газовий хроматограф «Хроматек-Кристалл 5000» (рф).

Вміст ФК визначали шляхом імуноферментного аналізу тест-системами фірми Immundiagnostik (Німеччина) за допомогою імуноферментного аналізатора Stat Fax 303 Plus (США), на якому вимірювали оптичну щільність при довжині хвилі 450 нм і 630 нм. Нормальною вважали концентрацію менше ніж 50 мкг/г калу.

Дослідження виконали, дотримуючись основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи здійснення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.).

Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою пакета прикладних програм Statistica 6.1 (серійний номер AGAR90E415822FA). Статистичний аналіз отриманих даних передбачав розрахунок медіани (Me), нижнього та верхнього квартилів (Q25; Q75). Використали описативну статистику: M – середнє значення показника, m – помилка визначення середнього. Середні значення змінних порівнювали за допомогою параметричного методу (t-критерій Стьюдента), якщо розподіл ознак, що виражені в інтервальної шкалі, відповідав закону нормального розподілу. Для перевірки нормальності вибірок кількісних даних застосували W-критерій Шапіро-Вілкі. Кількісні показники порівнювали за допомогою U-критерію Манна-Вітні. Статистичну значущість визначали на рівні не нижче

Таблиця 1. Частота виявлення морфологічних змін СО ТК у хворих на НВК і ХК залежно від ступеня тяжкості захворювання, n (%)

Морфологічна ознака	НВК, легкий ступінь, n = 11,	НВК, середній ступінь, n = 39	НВК, важкий ступінь, n = 5	ХК, n = 13
Стан епітелію:				
– без змін	7 (63,6 %)	26 (66,7 %)	1 (20,0 %)	7 (53,8 %)
– порушення цілісності	4 (36,4 %)	8 (20,5 %)	2 (40,0 %)	3 (23,1 %)
– ерозії	0 (0 %)	5 (12,8 %)	2 (40,0 %)	2 (15,4 %)
– виразки	–	–	–	1 (7,7 %)
Порушення архітектоники крипт:				
– порушена	4 (36,4 %)	7 (17,9 %)	2 (40,0 %)	2 (15,4 %)
– збережена	7 (63,6 %)	32 (82,1 %)	3 (60,0 %)	11 (84,6 %)
Атрофія:				
– виявили	10 (90,9 %)	9 (23,1 %)	2 (40,0 %)	4 (30,8 %)
– не виявили	1 (9,1 %)	30 (76,9 %)	3 (60,0 %)	9 (69,2 %)
Крипт-абсцеси:				
– поодинокі	3 (27,3 %)	15 (38,5 %)	2 (40,0 %)	3 (23,1 %)
– множинні	3 (27,3 %)	4 (10,3 %)	2 (40,0 %)	1 (7,7 %)
– відсутні	5 (45,4 %)	20 (51,2 %)	1 (20,0 %)	9 (69,2 %)

ніж 95,0 % (p < 0,05). Взаємозв'язки між показниками оцінювали за допомогою значущих коефіцієнтів кореляції Спірмена (r).

Результати

Колоноскопія та наступне гістологічне оцінювання біопсій – «золотий стандарт» діагностики та лікування при ЗК.

Гістологічно ХК характеризувалась змінами архітектоники крипт у 15,4 % (2 хворих) випадків (табл. 1). Атрофічні зміни виявили у 4 (30,8 %) пацієнтів, фіброз – у 3 (23,1 %) випадках. Поодинокі крипт-абсцеси визначили у 3 (23,1 %) хворих, множинні – лише в 1 (7,7 %). Типова морфологічна ознака ХК – вузькі, глибокі виразки та ерозії, що виявили у 7,7 % (1 хворий) та 15,4 % (2 пацієнти) відповідно.

Зазначимо, що за результатами гістологічного й морфометричного досліджень не встановили різницю між пацієнтами з ХК середнього ступеня тяжкості й тяжким перебігом, тому надалі цих хворих не стратифікували в відповідні групи.

При легкій формі НВК у 7 (63,6 %) пацієнтів конфігурація крипт не змінена, в 4 (36,4 %) випадках виявили збільшення кількості келихоподібних клітин, розгалуження крипт, одиничні келихоподібні клітини в поверхневому епітелії (або їх взагалі не було), набряк власної пластинки. Множинні крипт-абсцеси визначили в 5 (45,4 %) випадках.

У всіх пацієнтів із легкою формою НВК поряд із дуже помірно запальною інфільтрацією спостерігали вкорочення глибини крипт – атрофічні зміни, що прогресували зі збільшенням тяжкості НВК. Так, поширеність атрофії при тяжкій формі в 1,7 раза більша, ніж при середній, становила 40,0 % (2 пацієнти) (табл. 1).

При НВК середнього ступеня тяжкості лише в 17,9 % (7 пацієнтів із 39) випадків виявили деформацію крипт. Поодинокі крипт-абсцеси визначили у 38,5 % (15 хворих), множинні – у 10,3 % (4 пацієнти) випадків. Морфологічне дослідження показало високу частоту ерозій при збільшенні щільності інфільтрату (p < 0,05)

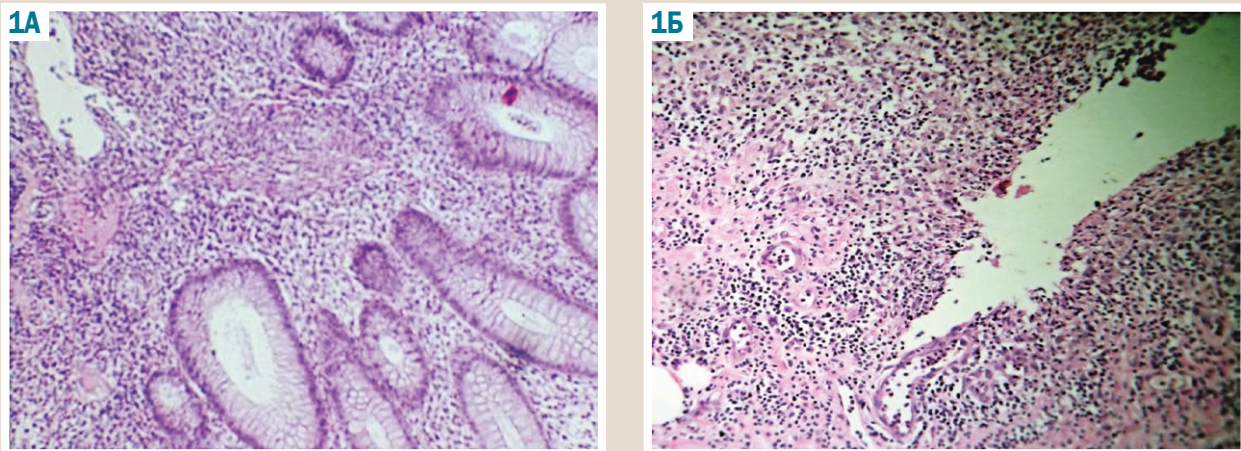


Рис. 1. А: множинні крипт-абцеси СО ТК при НВК; забарвлення гематоксилін-еозин, $\times 200$. Б: морфологічні зміни СО ТК при ХК; щілиноподібні виразки СО та підслизової основи з виникненням на дні виразок грануляційної тканини, виражена поліморфноклітинна інфільтрація; забарвлення гематоксилін-еозин, $\times 200$.

Таблиця 2. Морфометричні показники СО ТК у пацієнтів із НВК різних ступенів тяжкості, $M \pm m$

Показник, одиниці вимірювання	Ступені тяжкості НВК		
	Легкий, n = 11	Середній, n = 39	Тяжкий, n = 5
Глибина крипт, мкм	447,50 \pm 21,11	452,60 \pm 8,12	426,10 \pm 22,37
Висота епітелію крипт, мкм	38,30 \pm 1,49	42,30 \pm 0,33 ¹	36,00 \pm 2,17 ²
Висота поверхневого епітелію, мкм	44,60 \pm 2,35	45,70 \pm 2,32	51,50 \pm 2,81 ³
Кількість келихоподібних клітин епітелію крипт, на 100 клітин	20,50 \pm 2,05	26,60 \pm 1,43 ¹	10,50 \pm 1,04 ³
Щільність клітинного інфільтрату, на 1 мм ² строми	12226,8 \pm 509,3	12189,2 \pm 431,6	12325, \pm 749,3
Кількість еозинофілів, на 1 мм ² строми	432,10 \pm 2,27	441,00 \pm 4,40	472,30 \pm 12,95
Кількість нейтрофілів, на 1 мм ² строми	176,00 \pm 8,22	149,60 \pm 3,81	166,30 \pm 11,75

¹: статистична значущість порівняно з показниками при легкому та середньому ступенях тяжкості НВК – $p < 0,05$; ²: статистична значущість порівняно з даними при середньому й тяжкому ступенях НВК – $p < 0,05$; ³: статистична значущість порівняно з показниками при НВК легкого і тяжкого перебігу – $p < 0,05$.

та атрофії ($p < 0,01$) в групі хворих, у котрих у слизовій оболонці визначили високий рівень щільності інфільтрату. Наявність крипт-абсцесів – одна з ознак активності НВК (рис. 1). Виникнення крипт-абсцесів свідчить про можливий початок формування ерозій, і його можна вважати запаленням помірної активності, а виникнення ерозій визначають як виражене запалення.

Пацієнти із НВК середнього ступеня тяжкості за морфометричними показниками мали найбільші значення глибини крипт, висоти їхнього епітелію та кількості келихоподібних клітин (табл. 2).

Збільшення висоти поверхневого епітелію в пацієнтів із НВК середнього й тяжкого перебігу свідчить про потовщення епітеліального шару як регенеративну відповідь на пошкодження СО кишечника.

У частини пацієнтів атрофія крипт супроводжувалась зменшенням кількості келихоподібних клітин в епітелії крипт. Кількість клітин цього виду низька, і це є показником низької продукції муцинового секрету залоз.

Виражена клітинна інфільтрація свідчить про хронічне запалення, активізацію імунної відповіді у власній пластинці внаслідок антиоксидантної та мікрофагоцитуючої дії еозинофілів.

Наголосимо, що клітинна щільність власної пластинки СО в основі крипт при важкому перебігу вища за таку під покривним епітелієм. Це пов'язано з виходом формених елементів крові в периваскулярний простір.

Вивчили кількісну зміну концентрації фекальних КЛЖК: ацетату, пропіонату, бутирату – в пацієнтів із НВК і ХК порівняно з контрольними зразками. Виявили вірогідне зниження концентрацій оцтової та масляної кислот у пацієнтів із НВК у 7,6 раза, а в хворих на ХК – у 5,8 раза ($p < 0,001$) порівняно з контролем. Це свідчить про втрату бактерій, що продукують ці кислоти (рис. 2). Визначили збільшення концентрації пропіонової кислоти в пацієнтів із НВК, і з ХК (в 1,7 і 2,8 раза відповідно).

Зі зменшенням ступеня тяжкості перебігу НВК спостерігали вірогідне зниження вмісту оцтової кислоти (C_2) в копрофільтраті: при легкому перебігу – в 7,6 раза ($p < 0,001$), середньому – в 7,1 ($p < 0,001$) раза, тяжкому – 8,3 раза ($p < 0,01$) порівняно з контролем. Показано, що колоноцити в пацієнтів із НВК мають істотно знижену здатність окислювати бутират. Припускають, що запалення та ступінь тяжкості НВК можуть бути пов'язані зі станом дефіциту енергії, й отримані в нашому дослідженні результати збігаються з відомостями наукової літератури [30].

Вірогідне збільшення вмісту пропіонової (C_3) кислоти в середньому в 1,8 раза ($p < 0,01$) характерне для НВК усіх ступенів тяжкості. Виявили значуще зниження вмісту масляної кислоти (C_4) при тяжкому ступені перебігу – 2,8 раза ($p < 0,01$) порівняно з контролем (рис. 3).

При ХК спостерігали вірогідне зниження вмісту оцтової кислоти в копрофільтраті при середньому й тяжкому ступенях – в 4,3 ($p < 0,001$) і 15,4 раза ($p < 0,001$) відповідно порівняно з контролем (рис. 4).

Отже, у пацієнтів із ЗЗК, а також залежно від нозології та ступеня тяжкості захворювання процес утворення, всмоктування й утилізації КЛЖК порушувався, тому вміст і, особливо, співвідношення окремих КЛЖК у копрофільтраті змінювалися. Різнострамовані відхилення від фізіологічної норми рівнів і спектрів цих метаболітів можуть бути біохімічними маркерами структурних і функціональних порушень кишкового мікробіоценозу.

Враховуючи наведені факти, детальне вивчення КЛЖК (і загального вмісту, й окремих кислот) може бути перспективним у продовженні дослідження виникнення й прогресування ЗЗК.

Аналіз вмісту ФК як маркера запалення кишечника показав: для хворих на НВК характерний його вищий рівень (рис. 5).

Рівень ФК визначили у 40 пацієнтів. Так, у хворих на НВК цей показник становив 43,8–1234,4 мкг/г, у пацієнтів із ХК – від 25,0 мкг/г до 681 мкг/г. У 15,6 % (5 із 32) хворих на НВК та у 37,5 % (3 із 8) пацієнтів із ХК спостерігали помірне підвищення рівня (від 50 мкг/г до 120 мкг/г); у 81,2 % (26 із 32) хворих на НВК та у 50,0 % (4 із 8) пацієнтів із ХК вміст кальпротектину значущо підвищений. Рівень ФК вірогідно перевищував норму в 11,6 раза ($p < 0,05$) у хворих на НВК, в 5,7 раза ($p < 0,05$) – в пацієнтів із ХК. Концентрація ФК при НВК вдвічі перевищувала таку при ХК ($p < 0,05$) (рис. 6).

Надалі аналіз результатів здійснили залежно від тяжкості перебігу НВК (рис. 7). Вміст кальпротектину вірогідно збільшений у хворих із легким перебігом НВК – у 2,0 раза, $p < 0,05$, у пацієнтів із НВК середнього ступеня – в 15,4 раза, $p < 0,05$, в осіб з тяжким перебігом – у 28,1 раза, $p < 0,05$ порівняно зі значеннями в групі контролю.

Зазначимо, що у хворих на НВК тяжкого ступеня вміст ФК в 14,1 ($p < 0,05$) і 1,8 раза ($p < 0,05$) вищий, ніж у пацієнтів із легким і середнім ступенями відповідно. Рівень ФК вірогідно вищий у 8,0 раза ($p < 0,05$) у хворих на ХК середнього ступеня, в 9,4 раза ($p < 0,05$) – тяжкого ступеня (рис. 8). Встановили, що рівень ФК підвищувався зі збільшенням ступеня тяжкості НВК і ХК; це підтверджено кореляційним зв'язком між рівнем ФК і ступенем тяжкості захворювання ($r = 0,589$; $p = 0,001$).

Найсильніші позитивні кореляційні зв'язки виявили між морфологічними показниками, що підтверджено морфометричними вимірюваннями біоптатів (табл. 3).

Базальний плазмоцитоз, де значну частину становлять еозинофіли, можна вважати показником ранньої діагностики ЗЗК. Відомо також, що білок TGF- β 1, який вивільняється з гранул еозинофілів, спричиняє фібротичні зміни. Виявили позитивний кореляційний зв'язок між кількістю еозинофілів і наявністю ерозій, крипт-абсцесів ($p < 0,05$).

Зіставлення морфометричних показників СО ТК у пацієнтів із ЗЗК виявило значущі кореляційні зв'язки між порушенням епітелію та порушенням архітектури крипт ($p < 0,01$), щільністю інфільтрації ($p < 0,05$) та гістологічною активністю ($p < 0,05$). Така кореляція пояснюється тим, що клітини запального інфільтрату, крім розташування у власній пластинці, можуть бути й міжепітеліально, всередині шару епітелію, а в разі порушення цілісності клітин епітелію відбувається вихід запального інфільтрату. Скупчення клітин запального

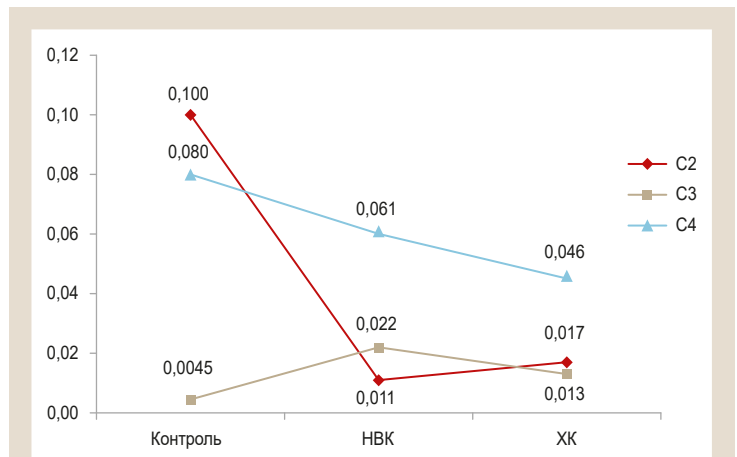


Рис. 2. Вміст коротколанцюгових жирних кислот (мкг/мкл) у зразках калу пацієнтів із ЗЗК порівняно з контрольними зразками (мкг/мкл).

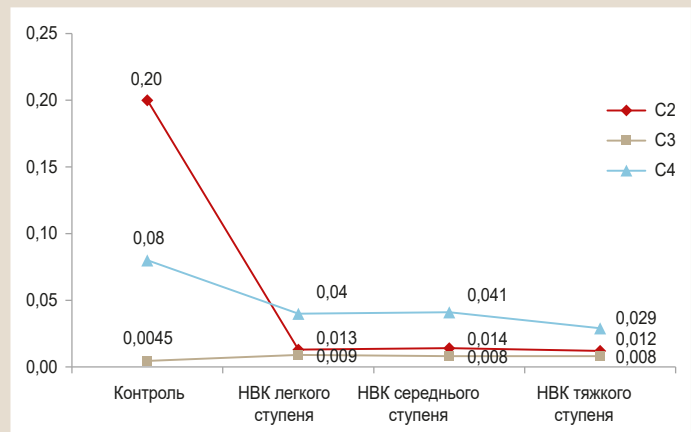


Рис. 3. Вміст коротколанцюгових жирних кислот у калі пацієнтів із НВК залежно від ступеня тяжкості перебігу (мкг/мкл).

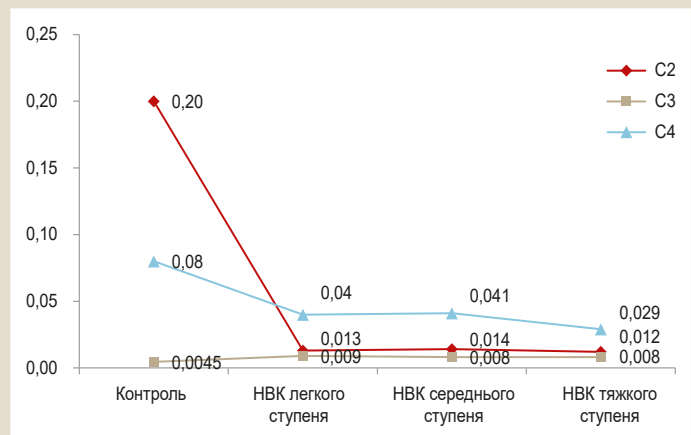


Рис. 4. Вміст коротколанцюгових жирних кислот у копрофільтраті пацієнтів із хворобою Крона залежно від ступеня тяжкості (мкг/мкл).

інфільтрату міжепітеліально в стінках крипт із наступним потраплянням у просвіт крипт внаслідок порушення цілісності епітеліального шару є причиною їх накопичення в просвіті та утворення крипт-абсцесів.

Виявили значущі кореляційні взаємозв'язки між морфологічними показниками й органічними кислотами у калі (КЛЖК) в пацієнтів із ЗЗК.

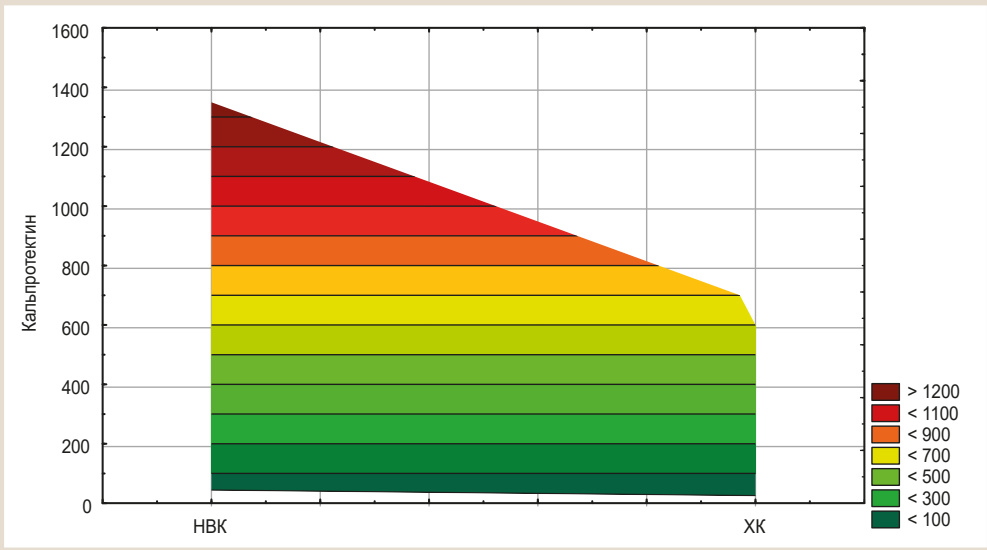


Рис. 5. Рівень ФК (мкг/г) у хворих на ЗЗК.

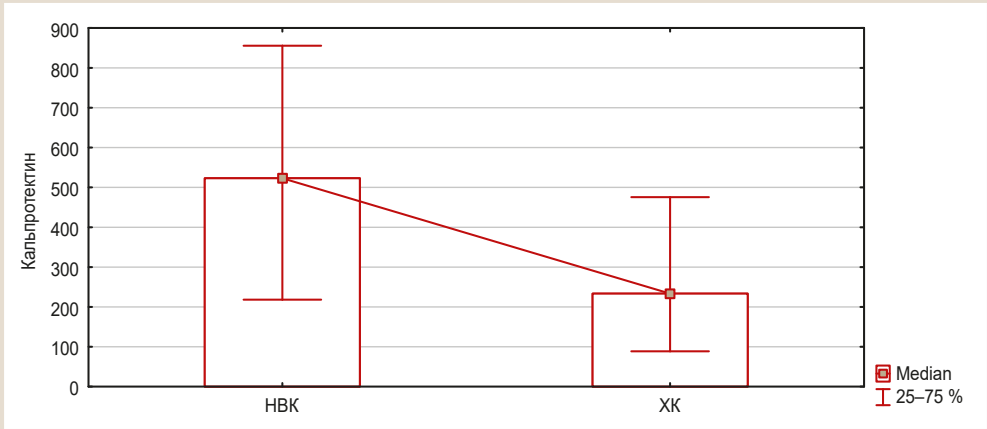


Рис. 6. Кількісний вміст ФК (мкг/г) у хворих на НВК і ХК.

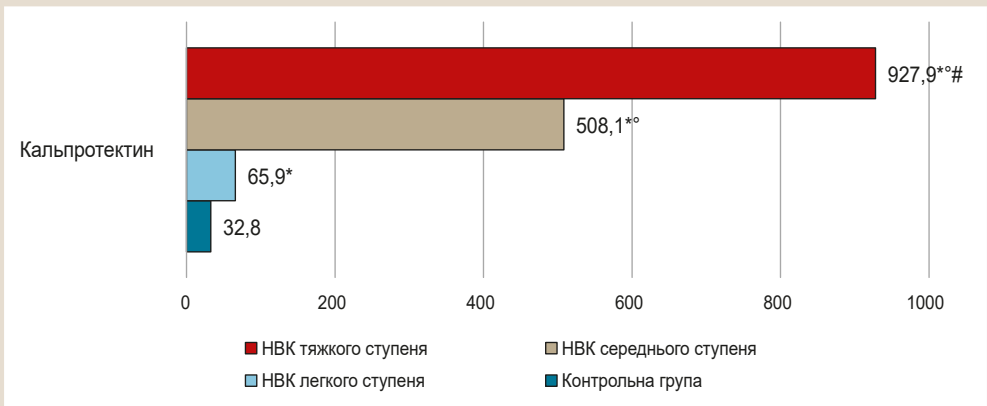


Рис. 7. Вміст ФК (мкг/г) залежно від тяжкості перебігу НВК (n = 55).

*: статистична значущість порівняно з показниками контролю – $p < 0,05$;
 °: статистична значущість порівняно з групою НВК легкого ступеня – $p < 0,05$;
 #: статистична значущість порівняно з групою НВК середнього ступеня – $p < 0,05$.

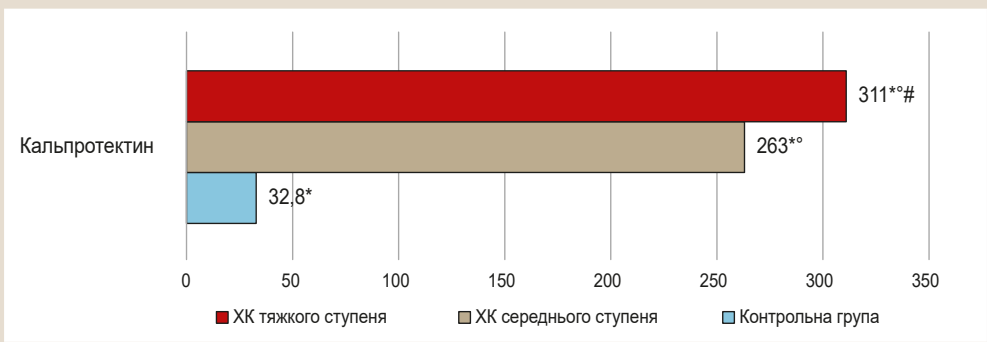


Рис. 8. Вміст ФК (мкг/г) залежно від тяжкості перебігу ХК (n = 13).

*: статистична значущість порівняно з показниками контролю – $p < 0,05$.

Таблиця 3. Кореляційні взаємозв'язки між морфологічними змінами СО ТК та біохімічними показниками КЛЖК і ФК у калі пацієнтів із ЗЗК

Пари кореляційних параметрів		Коефіцієнт кореляції, r	Вірогідність різниці
Атрофія	ФК	0,458	p < 0,05
Щільність інфільтрації	ФК	0,434	p < 0,05
Пропіонова кислота C ₃	Еозинофіли	-0,360	p < 0,05
Масляна кислота C ₄	Еозинофіли	-0,412	p < 0,05
C ₂ -C ₄	Еозинофіли	-0,371	p < 0,05
Порушення епітелію	Порушення архітекτονіки крипт	0,706	p < 0,01
Щільність інфільтрації	Порушення епітелію	0,501	p < 0,01
Гістологічна активність	Порушення епітелію	0,497	p < 0,01
Ерозії епітелію	Виразки епітелію	0,422	p < 0,01

Обговорення

Якісний підхід до вивчення патологічних процесів нині вважають недостатнім. Для точного й об'єктивного оцінювання змін в органах і тканинах необхідне широке використання кількісних, як-от морфометричних, методів дослідження та статистичний аналіз результатів. Це не тільки збільшує точність визначення характеру й опису досліджуваних явищ, але й об'єктивізує морфологічну діагностику. У нашому дослідженні вивчали особливості морфологічного стану, морфометричні показники СО ТК і зв'язок із рівнями органічних кислот у фекаліях, маркер запалення (ФК). Морфологічні й морфометричні дані – достовірні критерії активності патологічного процесу при ЗЗК. У клініко-морфологічному аспекті для об'єктивного оцінювання стану СО ТК найбільш інформативними є морфометричні параметри, що характеризують перебіг запального процесу, морфофункціональний стан при різних ступенях перебігу НВК. Підтверджено необхідність застосовувати метод морфометрії для доповнення морфологічної картини слизової оболонки кишечника у пацієнтів із НВК і ХК.

Ми показали, що вищий ступінь запалення в пацієнтів із тяжким НВК поєднувався з нижчим рівнем тканинного неспецифічного захисту; це визначається кількістю келихоподібних клітин (p < 0,01). Крім того, товщина СО та глибина кишкових залоз не досягали значень норми. У поверхневому епітелії істотно збільшувалась кількість еозинофілів і нейтрофілів гранулоцитів. Попередні дослідження підтверджують, що переважання в запальному інфільтраті нейтрофілів та еозинофілів вказує на активність патологічного процесу у власній пластинці ТК. У стромі суттєво збільшувалась щільність клітинного інфільтрату, і це свідчить про вираженість у ній запального процесу [25].

Здійснили комплексне оцінювання змін концентрації КЛЖК і ФК у калі пацієнтів із НВК і ХК різних ступенів тяжкості, а також зразків контрольної групи. Встановили, що рівні масляної кислоти майже не відрізнялися в пацієнтів із НВК і ХК. Так, її концентрація залишилася зниженою в обох групах щодо контролю, проте суттєвіше зниження виявили в пацієнтів із тяжким перебігом НВК. Це явище можна пояснити тим, що дефіцит окремої корисної мікробіоти, як-от *Faecalibacterium prausnitzii*, у хворих на НВК, особливо з тяжким перебігом хвороби, сприяє зниженню рівня бутирату, розвитку та підтриманню відновлення при НВК. Масляна кислота має протизапальні, антиоксидантні та регенерувальні властивості, тому її знижений рівень може спричиняти загострення захворювання.

Не можна виключати і те, що дисбіоз, який зазвичай визначають при активному прогресуванні НВК, може перешкоджати перетворенню лактату в бутират. Це призводить до підвищення рівня молочної кислоти та зниження рівня масляної кислоти в калі.

Для оцінювання функціонального стану кишечника при ЗЗК необхідно визначити КЛЖК у калі. Ця методика ефективна, її можна використовувати для визначення рівня основних органічних кислот у калі, а разом із морфологічними дослідженнями вона дає детальнішу діагностичну картину. Це дослідження дає змогу розрізнити підгрупи пацієнтів із НВК із дефіцитом КЛЖК, зрозуміти можливий механізм їхньої дії, щоб надалі рекомендувати хворим терапію з додаванням препаратів, що містять КЛЖК [31].

У попередніх дослідженнях визначили, що зі збільшенням ендоскопічної активності в пацієнтів із ЗЗК, і з ХК підвищувався вміст ФК. Виявили також, що максимальні значення ФК були у хворих із тяжким перебігом, мінімальні – в пацієнтів із легким ступенем [19,24,27]. У нашому дослідженні виявили, що для хворих на НВК характерний вищий рівень ФК, ніж у пацієнтів із ХК, і його рівень підвищувався зі збільшенням ступеня тяжкості захворювання.

Висновки

1. Під час гістологічного дослідження колонобіоптатів морфометричні показники точніше характеризувати значущі атрофічні зміни СО ТК при ЗЗК внаслідок змін глибини крипт, висоти епітелію, кількості келихоподібних клітин, що підтверджує виникнення атрофічних змін. Кореляційні зв'язки між гістологічними та морфометричними показниками підтверджують ступінь тяжкості НВК.

2. У пацієнтів із ЗЗК визначали різноспрямовані зміни вмісту КЛЖК у копрофільтраті, пов'язані зі збільшенням вмісту пропіонової (C₃) (p < 0,01) та зниженням рівня оцтової (C₂) кислоти (p < 0,05) порівняно зі здоровим контролем. Результати дослідження показали асоціацію між ЗЗК і вмістом КЛЖК у копрофільтраті, що підтверджено кореляційними зв'язками між зниженим їхнім вмістом та еозинофільною інфільтрацією (r = -0,412; p < 0,05).

3. У групі пацієнтів із НВК тяжкого перебігу виявили вірогідне зниження вмісту оцтової (C₂) (p < 0,001) та масляної кислот (C₄) (p < 0,001) щодо контролю. При ХК тяжкого ступеня встановили вірогідне зниження вмісту оцтової кислоти (C₂) (p < 0,001) порівняно з контролем.

4. Для хворих на НВК характерний високий вміст фекального кальпротектину – вдвічі ($p < 0,05$) перевищував показник пацієнтів із ХК. Рівень ФК підвищувався зі збільшенням ступеня тяжкості НВК; це підтверджено кореляційними зв'язками між рівнем ФК і тяжкістю захворювання ($r = 0,589$; $p = 0,001$), ФК та атрофією ($r = 0,458$; $p < 0,05$), ФК і щільністю інфільтрації ($r = 0,434$; $p < 0,05$).

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 28.06.2022

Після доопрацювання / Revised: 19.07.2022

Прийнято до друку / Accepted: 22.08.2022

Відомості про авторів:

Стойкевич М. В., канд. мед. наук, зав. відділення захворювання кишечника, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

ORCID ID: [0000-0002-6111-7267](https://orcid.org/0000-0002-6111-7267)

Гайдар Ю. А., д-р мед. наук, зав. лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

ORCID ID: [0000-0001-8284-0908](https://orcid.org/0000-0001-8284-0908)

Милостива Д. Ф., канд. с.-г. наук, старший науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

ORCID ID: [0000-0002-3609-776X](https://orcid.org/0000-0002-3609-776X)

Кленіна І. А., канд. біол. наук, зав. науково-дослідного сектора, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

ORCID ID: [0000-0002-5878-179X](https://orcid.org/0000-0002-5878-179X)

Татарчук О. М., канд. біол. наук, старший науковий співробітник науково-дослідного сектора, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

ORCID ID: [0000-0002-0672-972X](https://orcid.org/0000-0002-0672-972X)

Карачинова В. А., канд. біол. наук, старший науковий співробітник науково-дослідного сектора, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпро.

ORCID ID: [0000-0003-2402-8991](https://orcid.org/0000-0003-2402-8991)

Information about authors:

Stoikevych M. V., MD, PhD, Head of the Department of Intestinal Diseases, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Haidar Yu. A., MD, PhD, DSc, Head of the Pathomorphological Laboratory, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Mylostyva D. F., PhD, Senior Researcher the Pathomorphological Laboratory, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Klenina I. A., PhD, Head of the Research Sector, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Tatarchuk O. M., PhD, Senior Researcher of the Research Sector, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Karachynova V. A., PhD, Senior Researcher of the Research Sector, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro.

Список літератури

- [1] Sairenji T., Collins K. L., Evans D. V. An Update on Inflammatory Bowel Disease. *Primary care*. 2017. Vol. 44, Iss. 4. P. 673-692. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2017.07.010>
- [2] Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies / B. Ahluwalia, L. Moraes, M. K. Magnusson, L. Öhman. *Scandinavian journal of gastroenterology*. 2018. Vol. 53, Iss. 4. P. 379-389. <https://doi.org/10.1080/00365521.2018.1447597>
- [3] Involvement of Proinflammatory Arachidonic Acid (ARA) Derivatives in Crohn's Disease (CD) and Ulcerative Colitis (UC) / J. Kikut et al. *Journal*

of clinical medicine. 2022. Vol. 11, Iss. 7. P. 1861. <https://doi.org/10.3390/jcm11071861>

- [4] Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies / S. C. Ng et al. *Lancet*. 2018. Vol. 390. P. 2769-2778. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0)
- [5] Ursolic Acid Regulates Intestinal Microbiota and Inflammatory Cell Infiltration to Prevent Ulcerative Colitis / Q. Sheng et al. *Journal of immunology research*. 2021. Vol. 2021. P. 6679316. <https://doi.org/10.1155/2021/6679316>
- [6] Impact of Microbial Metabolites on Microbiota-Gut-Brain Axis in Inflammatory Bowel Disease / D. Banfi et al. *International journal of molecular sciences*. 2021. Vol. 22, Iss. 4. P. 1623. <https://doi.org/10.3390/ijms22041623>
- [7] Chelakkot C., Ghim J., Ryu S. H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Experimental & molecular medicine*. 2018. Vol. 50, Iss. 8. P. 1-9. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0126-x>
- [8] Gut Microbiota in NSAID Enteropathy: New Insights From Inside / X. Wang et al. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2021. Vol. 11. P. 679396. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.679396>
- [9] Gasaly N., de Vos P., Hermoso M. A. Impact of Bacterial Metabolites on Gut Barrier Function and Host Immunity: A Focus on Bacterial Metabolism and Its Relevance for Intestinal Inflammation. *Frontiers in immunology*. 2021. Vol. 12. P. 658354. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.658354>
- [10] Host Genetics and Gut Microbiome: Perspectives for Multiple Sclerosis / A. Maglione et al. *Genes*. 2021. Vol. 12, Iss. 8. P. 1181. <https://doi.org/10.3390/genes12081181>
- [11] Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations / M. van de Wouw et al. *The Journal of physiology*. 2018. Vol. 596, Iss. 20. P. 4923-4944. <https://doi.org/10.1113/JP276431>
- [12] Lavelle A., Sokol H. (2020). Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2020. Vol. 17, Iss. 4. P. 223-237. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0258-z>
- [13] Agus A., Clément K., Sokol H. Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. *Gut*. 2021. Vol. 70, Iss. 6. P. 1174-1182. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323071>
- [14] Metabolome analysis for investigating host-gut microbiota interactions / M. X. Chen, S. Y. Wang, C. H. Kuo, I. L. Tsai. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*. 2019. Vol. 118, Iss. 1. P. S10-S22. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.09.007>
- [15] Jones R. L. Gut microbiome as a potential biomarker of cancer risk in inflammatory bowel disease. *Contemporary oncology*. 2022. Vol. 26, Iss. 1. P. 40-43. <https://doi.org/10.5114/wo.2022.114537>
- [16] Fobofou S. A., Savidge T. Microbial metabolites: cause or consequence in gastrointestinal disease?. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. 2022. Vol. 322, Iss. 6. P. G535-G552. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00008.2022>
- [17] Gut-microbiota derived bioactive metabolites and their functions in host physiology / N. Debnath et al. *Biotechnology & genetic engineering reviews*. 2021. Vol. 37, Iss. 2. P. 105-153. <https://doi.org/10.1080/02648725.2021.1989847>
- [18] Seyedian S. S., Nokhostin F., Malamir M. D. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *Journal of medicine and life*. 2019. Vol. 12, Iss. 2. P. 113-122. <https://doi.org/10.25122/jml-2018-0075>
- [19] Khaki-Khatibi, F., Quej, D., Kashifard, M., Moein, S., Maniati, M., & Vaghari-Tabari, M. (2020). Calprotectin in inflammatory bowel disease / F. Khaki-Khatibi et al. *Clinica chimica acta*. 2020. Vol. 510. P. 556-565. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.08.025>
- [20] Short-Chain Fatty Acid Transporters: Role in Colonic Homeostasis / S. Sivaprakasam, Y. D. Bhutia, S. Yang, V. Ganapathy. *Comprehensive Physiology*. 2017. Vol. 8, Iss. 1. P. 299-314. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170014>
- [21] Microbiota metabolite butyrate constrains neutrophil functions and ameliorates mucosal inflammation in inflammatory bowel disease / G. Li et al. *Gut microbes*. 2021. Vol. 13, Iss. 1. P. 1968257. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1968257>
- [22] Intestinal Inflammation Modulates the Epithelial Response to Butyrate in Patients With Inflammatory Bowel Disease / E. Ferrer-Picón et al. *Inflammatory bowel diseases*. 2020. Vol. 26, Iss. 1. P. 43-55. <https://doi.org/10.1093/ibd/izz119>
- [23] Siddiqui M. T., Cresci G. The Immunomodulatory Functions of Butyrate. *Journal of inflammation research*. 2021. Vol. 14. P. 6025-6041. <https://doi.org/10.2147/JIR.S300989>
- [24] Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization / S. Fukunaga et al. *International journal of molecular medicine*. 2018. Vol. 41, Iss. 1. P. 107-118. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3244>

- [25] Gender- and age-related features of the morphological state of the mucous membrane of the colon in patients with chronic inflammatory bowel diseases / Y. Gaydar et al. *Гастроентерологія*. 2020. Т. 54, № 1. P. 24-29. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.1.2020.199138>
- [26] The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication / B. Dalile, L. Van Oudenhove, B. Vervliet, K. Verbeke. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*. 2019. Vol. 16, Iss. 8. P. 461-478. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0157-3>
- [27] Determination of the intestinal microbiome composition in patients with crohn's disease and ulcerative colitis of different age categories and sex / K. Zaichenko et al. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2020. Т. 5, № 3. P. 273-281. <https://doi.org/10.26693/jmbs05.03.273>
- [28] Псарьова І. В. Зв'язок біомаркерів запалення в товстій кишці з індексом активності неспецифічного виразкового коліту. *Гастроентерологія*. 2020. Т. 54, № 1. С. 38-43. <https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.1.2020.199140>
- [29] 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 2: Surgical Management and Special Situations / P. Gionchetti et al. *Journal of Crohn's & colitis*. 2017. Vol. 11. P. 135-149. <https://doi.org/10.1093/ecco-icc/jjw169>
- [30] Clinical Parameters Correlate With Endoscopic Activity of Ulcerative Colitis: A Systematic Review / S. Restellini et al. *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2019. Vol. 17, Iss. 7. P. 1265-1275. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.12.021>
- [31] Fecal Levels of Lactic, Succinic and Short-Chain Fatty Acids in Patients with Ulcerative Colitis and Crohn Disease: A Pilot Study / O. Kaczmarczyk et al. *Journal of clinical medicine*. 2021. Vol. 10. P. 4701. <https://doi.org/10.3390/jcm10204701>
- [1] Sairenji, T., Collins, K. L., & Evans, D. V. (2017). An Update on Inflammatory Bowel Disease. *Primary care*, 44(4), 673-692. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2017.07.010>
- [2] Ahluwalia, B., Moraes, L., Magnusson, M. K., & Öhman, L. (2018). Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 53(4), 379-389. <https://doi.org/10.1080/00365521.2018.1447597>
- [3] Kikut, J., Mokrzycka, M., Drozd, A., Grzybowska-Chlebowczyk, U., Ziętek, M., & Szczuko, M. (2022). Involvement of Proinflammatory Arachidonic Acid (ARA) Derivatives in Crohn's Disease (CD) and Ulcerative Colitis (UC). *Journal of clinical medicine*, 11(7), 1861. <https://doi.org/10.3390/jcm11071861>
- [4] Ng, S. C., Shi, H. Y., Hamidi, N., Underwood, F. E., Tang, W., Benchimol, E. I., Panaccione, R., Ghosh, S., Wu, J., Chan, F., Sung, J., & Kaplan, G. G. (2017). Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*, 390(10114), 2769-2778. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0)
- [5] Sheng, Q., Li, F., Chen, G., Li, J., Li, J., Wang, Y., Lu, Y., Li, Q., Li, M., & Chai, K. (2021). Ursolic Acid Regulates Intestinal Microbiota and Inflammatory Cell Infiltration to Prevent Ulcerative Colitis. *Journal of immunology research*, 2021, 6679316. <https://doi.org/10.1155/2021/6679316>
- [6] Banfi, D., Moro, E., Bosi, A., Bistoletti, M., Cerantola, S., Crema, F., Maggi, F., Giron, M. C., Giaroni, C., & Baj, A. (2021). Impact of Microbial Metabolites on Microbiota-Gut-Brain Axis in Inflammatory Bowel Disease. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 1623. <https://doi.org/10.3390/jms22041623>
- [7] Chelakkot, C., Ghim, J., & Ryu, S. H. (2018). Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Experimental & molecular medicine*, 50(8), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0126-x>
- [8] Wang, X., Tang, Q., Hou, H., Zhang, W., Li, M., Chen, D., Gu, Y., Wang, B., Hou, J., Liu, Y., & Cao, H. (2021). Gut Microbiota in NSAID Enteropathy: New Insights From Inside. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 679396. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.679396>
- [9] Gasaly, N., de Vos, P., & Hermoso, M. A. (2021). Impact of Bacterial Metabolites on Gut Barrier Function and Host Immunity: A Focus on Bacterial Metabolism and Its Relevance for Intestinal Inflammation. *Frontiers in immunology*, 12, 658354. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.658354>
- [10] Maglione, A., Zuccalà, M., Tosi, M., Clerico, M., & Rolla, S. (2021). Host Genetics and Gut Microbiome: Perspectives for Multiple Sclerosis. *Genes*, 12(8), 1181. <https://doi.org/10.3390/genes12081181>
- [11] van de Wouw, M., Boehme, M., Lyte, J. M., Wiley, N., Strain, C., O'Sullivan, O., Clarke, G., Stanton, C., Dinan, T. G., & Cryan, J. F. (2018). Short-chain fatty acids: microbial metabolites that alleviate stress-induced brain-gut axis alterations. *The Journal of physiology*, 596(20), 4923-4944. <https://doi.org/10.1113/JP276431>
- [12] Lavelle, A., & Sokol, H. (2020). Gut microbiota-derived metabolites as key actors in inflammatory bowel disease. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 17(4), 223-237. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0258-z>
- [13] Agus, A., Clément, K., & Sokol, H. (2021). Gut microbiota-derived metabolites as central regulators in metabolic disorders. *Gut*, 70(6), 1174-1182. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-323071>
- [14] Chen, M. X., Wang, S. Y., Kuo, C. H., & Tsai, I. L. (2019). Metabolome analysis for investigating host-gut microbiota interactions. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi*, 118 Suppl 1, S10-S22. <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.09.007>
- [15] Jones R. L. (2022). Gut microbiome as a potential biomarker of cancer risk in inflammatory bowel disease. *Contemporary oncology*, 26(1), 40-43. <https://doi.org/10.5114/wo.2022.114537>
- [16] Fobofou, S. A., & Savidge, T. (2022). Microbial metabolites: cause or consequence in gastrointestinal disease?. *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*, 322(6), G535-G552. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00008.2022>
- [17] Debnath, N., Kumar, R., Kumar, A., Mehta, P. K., & Yadav, A. K. (2021). Gut-microbiota derived bioactive metabolites and their functions in host physiology. *Biotechnology & genetic engineering reviews*, 37(2), 105-153. <https://doi.org/10.1080/02648725.2021.1989847>
- [18] Seyedian, S. S., Nokhostin, F., & Malimir, M. D. (2019). A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *Journal of medicine and life*, 12(2), 113-122. <https://doi.org/10.25122/jml-2018-0075>
- [19] Khaki-Khatibi, F., Queje, D., Kashifard, M., Moein, S., Maniati, M., & Vaghari-Tabari, M. (2020). Calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 510, 556-565. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.08.025>
- [20] Sivaprakasam, S., Bhutia, Y. D., Yang, S., & Ganapathy, V. (2017). Short-Chain Fatty Acid Transporters: Role in Colonic Homeostasis. *Comprehensive Physiology*, 8(1), 299-314. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170014>
- [21] Li, G., Lin, J., Zhang, C., Gao, H., Lu, H., Gao, X., Zhu, R., Li, Z., Li, M., & Liu, Z. (2021). Microbiota metabolite butyrate constrains neutrophil functions and ameliorates mucosal inflammation in inflammatory bowel disease. *Gut microbes*, 13(1), 1968257. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.1968257>
- [22] Ferrer-Piçón, E., Dotti, I., Corraliza, A. M., Mayorgas, A., Esteller, M., Perales, J. C., Ricart, E., Masamunt, M. C., Carrasco, A., Tristán, E., Esteve, M., & Salas, A. (2020). Intestinal Inflammation Modulates the Epithelial Response to Butyrate in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Inflammatory bowel diseases*, 26(1), 43-55. <https://doi.org/10.1093/ibd/izz119>
- [23] Siddiqui, M. T., & Cresci, G. (2021). The Immunomodulatory Functions of Butyrate. *Journal of inflammation research*, 14, 6025-6041. <https://doi.org/10.2147/JIR.S300989>
- [24] Fukunaga, S., Kuwaki, K., Mitsuyama, K., Takedatsu, H., Yoshioka, S., Yamasaki, H., Yamauchi, R., Mori, A., Kakuma, T., Tsuruta, O., & Torimura, T. (2018). Detection of calprotectin in inflammatory bowel disease: Fecal and serum levels and immunohistochemical localization. *International journal of molecular medicine*, 41(1), 107-118. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3244>
- [25] Gaydar, Y., Stoykevich, M., Simonova O., Milostiva, D., Titova M., & Nedzvetska, N. (2021). Gender- and age-related features of the morphological state of the mucous membrane of the colon in patients with chronic inflammatory bowel diseases. *Gastroenterologia*, 54(1), 24-29. <https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.1.2020.199138>
- [26] Dalile, B., Van Oudenhove, L., Vervliet, B., & Verbeke, K. (2019). The role of short-chain fatty acids in microbiota-gut-brain communication. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 16(8), 461-478. <https://doi.org/10.1038/s41575-019-0157-3>
- [27] Zaichenko, K., Gavrylyuk, V., Klenina, I., Sklyar, T., Sokolova, I., Tatarchuk, O., & Vishnarevskaya, N. (2020). Determination of the intestinal microbiome composition in patients with crohn's disease and ulcerative colitis of different age categories and sex. *Український журнал медицини, біології та спорту*, 5(3), 273-281. <https://doi.org/10.26693/jmbs05.03.273>
- [28] Psareva, I. V. (2020). Zviazok biomarkeriv zapalennia v tovstii kyshtsi z indeksamy aktivnosti nespetsyficznego vyrazkovoho kolitu [Association of biomarkers of intestinal inflammation with indexes of ulcerative colitis activity]. *Gastroenterologia*, 54(1), 38-43. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.22141/2308-2097.54.1.2020.199140>
- [29] Gionchetti, P., Dignass, A., Danese, S., Magro Dias, F. J., Rogler, G., Lakatos, P. L., Adamina, M., Arzizzone, S., Buskens, C. J., Sebastian, S., Laureti, S., Sampietro, G. M., Vucelic, B., van der Woude, C. J., Barreiro-de Acosta, M., Maaser, C., Portela, F., Vavricka, S. R., Gomollón, F., & ECCO (2017). 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease 2016: Part 2: Surgical Management and Special Situations. *Journal of Crohn's & colitis*, 11(2), 135-149. <https://doi.org/10.1093/ecco-icc/jjw169>
- [30] Restellini, S., Chao, C. Y., Martel, M., Barkun, A., Kherad, O., Seidman, E., Wild, G., Bitton, A., Aff, W., Bessissow, T., & Lakatos, P. L. (2019). Clinical Parameters Correlate With Endoscopic Activity of Ulcerative Colitis: A Systematic Review. *Clinical gastroenterology and hepatology*, 17(7), 1265-1275.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.12.021>
- [31] Kaczmarczyk, O., Dąbek-Drobny, A., Woźniakiewicz, M., Paśko, P., Dobrowolska-Iwanek, J., Woźniakiewicz, A., Piątek-Guziewicz, A., Zagrodzki, P., Mach, T., & Zwolińska-Wcisło, M. (2021). Fecal Levels of Lactic, Succinic and Short-Chain Fatty Acids in Patients with Ulcerative Colitis and Crohn Disease: A Pilot Study. *Journal of clinical medicine*, 10(20), 4701. <https://doi.org/10.3390/jcm10204701>