

Гісто- та морфометричні зміни слизової оболонки товстого кишечника при хворобі Крона залежно від наявності фіброзу

For citation: Gastroenterologia. 2022;56(3):163-170. doi: 10.22141/2308-2097.56.3.2022.505

Резюме. Актуальність. Одними із поширених ускладнень при хворобі Крона є розвиток фібротичних змін стінки товстого кишечника і, як наслідок, можливість виникнення стриктур. Морфометричне дослідження клітинного складу колонобіоптатів є однією з розширених ланок діагностичних критеріїв запальних захворювань кишечника, що дають можливість прогнозувати розвиток хвороби. Зміни чисельності фіброblastів як складових мезенхімальних клітин можна вважати захисною реакцією на пошкодження тканин кишечника. **Метою роботи** було навести зміни гісто- та морфометричних показників слизової оболонки товстого кишечника залежно від розвитку фіброзу кишечника при хворобі Крона. **Матеріали та методи.** Гістологічно та морфометрично були досліджені колонобіоптати пацієнтів із хворобою Крона ($n = 38$). За даними морфологічних досліджень пацієнти були розподілені на дві групи: із фібротичними змінами стінки кишечника ($n = 10$) та без фіброзу ($n = 28$). **Результати.** Гістологічно спостерігались зміни слизової оболонки кишечника у вигляді зміни цілісності епітелію (78,3%), архітектоники крипт (34,2%), набряку слизової оболонки (28,9%), крипт-абсцесів (47,3%). Фібротичні зміни слизової оболонки кишечника виявлялись у 26,3% хворих. Запальний інфільтрат у своєму складі містив нейтрофіли, еозинофіли, лімфоцити, плазмочити, фіброцити, макрофаги. У той же час в групі хворих на хворобу Крона з фіброзом чисельність представників запального інфільтрату була вищою, ніж у групі пацієнтів із хворобою Крона без фіброзу. Пацієнти з фіброзними змінами стінки кишечника характеризувалися більш високою щільністю запального інфільтрату, у складі якого переважали макрофаги та фіброblastи. Також спостерігалось потовщення слизової оболонки кишечника у хворих із фіброзом. Причиною таких змін є активація механізму розвитку фіброзу на фоні запальних процесів. Також визначили низку прямих взаємозв'язків між фіброзом стінки товстої кишки та глибиною крипт ($r = 0,35$; $p < 0,05$); висотою епітелію крипт ($r = 0,41$; $p < 0,05$); клітинною щільністю інфільтрату ($r = 0,45$; $p < 0,05$); кількістю нейтрофілів ($r = 0,47$; $p < 0,05$); еозинофілів ($r = 0,39$; $p < 0,05$); фіброblastів ($r = 0,57$; $p < 0,05$). **Висновки.** У колонобіоптатах пацієнтів при хворобі Крона із фіброзом кишечника відмічається більш щільний та підвищений рівень запального інфільтрату. Активний розвиток фіброзного процесу напряму пов'язаний із високим рівнем фіброblastів в інфільтраті.

Ключові слова: інфільтрат; фіброblastи; запальні захворювання кишечника; клітини; епітелій; фіброз

Вступ

Хвороба Крона (ХК) являє собою хронічне запальне захворювання кишечника (ЗЗК) неясної етіології з рецидивуючими станами. ХК характеризується трансмуральним сегментарним поширенням запального процесу з розвитком місцевих та системних ускладнень, чергуванням загострень та ремісій [1, 2].

ХК може вражати будь-який відділ шлунково-кишкового тракту. У 50% пацієнтів залучаються термінальний відділ клубової кишки та товста кишка, у 30% — тільки тонка кишка, а у 20% випадків ураження локалізується в товстому кишечнику (ТК). Крім того, 25% пацієнтів мають періанальні ускладнення, включаючи тріщини та виразки. Набагато рідше (< 10%

© 2022. The Authors. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY, which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Милостива Д.Ф., старший науковий співробітник лабораторії патоморфології, ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», пр. Слобожанський, 96, м. Дніпро, 49074, Україна; e-mail: mylostivad@i.ua; контактний тел.: +380972460639

For correspondence: Mylostyva D.F., Senior Research Fellow at the Department of pathomorphology, SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Slobozhanskii avenue, 96, Dnipro, 49074, Ukraine; e-mail: mylostivad@i.ua; contact phone: +380972460639

Full list of authors information is available at the end of the article.

випадків) у пацієнтів можуть виникати ізольовані періанальні скарги, захворювання верхніх відділів шлунково-кишкового тракту [3, 25].

Хронічне запалення, численні виразки та пошкодження стінок кишечника можуть викликати неконтрольоване відкладання позаклітинного матриксу (ПКМ) та бути причиною розвитку фібротичних змін [4, 5], оскільки основними компонентами ПКМ є фібронектин, колагени, ламініни та протеоглікани [6, 7, 18]. Тому основні ускладнення при ХК, що можуть вимагати хірургічного втручання, включають утворення фіброзних стриктур, норичь, зниження всмоктувальної функції, ризик розвитку раку.

Традиційна думка про те, що фіброз кишечника є невиключним та незмінним процесом у пацієнтів із ЗЗК, поступово змінюється з огляду на розкриття клітинних та молекулярних механізмів, що лежать в основі патогенезу фіброзу [8].

Природне відновлення пошкоджених стінок кишечника передбачає активацію міофібробластів та фібробластів, які синтезують компоненти ПКМ, але надлишкова активація цих компонентів може призвести до розвитку фіброзних змін кишечника [1, 9].

Окремі гістологічні зміни (фіброз, гіперплазія м'язової тканини) можуть бути причиною розвитку потовщення і/або стриктурування стінки кишечника. Гістологічні зміни, пов'язані з розвитком фіброзу при ХК, напряду залежать від накопичення та зміни поведінки клітин мезенхімального походження, а також окремих популяцій імунних клітин [26]. Мезенхімальні клітини, що включають в себе фібробласти (ФБ), міофібробласти та м'язові клітини, збільшуються у розмірах та неприродно реагують на сигнали цитокінів від імунних клітин. Але потрібно відмітити, що клітини цього типу також можуть секретувати компоненти ПКМ, що заповнюють фіброзну тканину [8, 10]. Навіть набряк слизової оболонки (СО), як частина запалення, може запускати каскад розвитку цього патологічного процесу [11, 12].

Окремі дослідження показали, що жорсткість матриксу активує ФБ товстої кишки до фіброгенного фенотипу. Це формує думку про те, що механічні властивості клітинного середовища призводять як до гістологічних змін, так і до трансформації ФБ від непроліферативного фенотипу до активованого і мають ключове значення для активації ФБ [9, 13].

Під час природного відновлення тканин колаген заміщує тимчасову фіброзну тканину, створюючи постійну ізоляцію ушкодженої тканини. У відповідь на сигнали від травми, які ініціюють процес загоєння, ФБ активуються, проліферують та розширюються. Після чого розширені ФБ проходять шлях трансформації у міофібрили — клітини, що відновлюють тканини.

На сьогодні дуже часто піднімаються питання ролі ФБ при ХК, оскільки, маючи унікальний потенціал до диференціювання й будучи продуцентами спектра біологічно активних речовин, ці клітини можуть і повинні сприяти загоєнню пошкодженої СО оболонки кишечника та досягненню тривалої ремісії [14].

Таким чином, посилення синтезу ФБ можна розглядати як доброякісну реакцію на ушкодження СО кишечника, яка за наявності окремих прозапальних сигналів запускає розвиток фібротичних змін стінки кишечника [10].

Одним із головних діагностичних критеріїв гістологічної оцінки колонобіоптатів при ЗЗК є дослідження клітинного складу запального інфільтрату СО ТК.

Гістологічні та морфометричні дослідження дають можливість не лише надати об'єктивну оцінку активності запального процесу в кишечнику при ХК, але й спрогнозувати перебіг захворювання та тактику ведення пацієнтів.

Мета роботи: навести зміни гістологічних та морфометричних показників слизової оболонки товстого кишечника залежно від розвитку фібротичних змін стінки кишечника при хворобі Крона.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження були колонобіоптати, які отримували від пацієнтів із ХК (n = 38), що спостерігались в Інституті гастроентерології НАМН України (м. Дніпро).

Пацієнти надходили в стаціонарне відділення в стадії загострення. Усім хворим проводили ендоскопічне дослідження товстого кишечника для встановлення діагнозу та отримання колонобіоптатів із використанням відеоколоноскопа Pentax EC-380LКр (Японія).

Обстеження пацієнтів проводили з дотриманням 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.).

За допомогою гістологічних методів досліджували загальну морфологічну структуру, визначали характер, тяжкість патологічних змін СО ТК. Для з'ясування морфологічних змін вивчали такі показники: цілісність епітелію, стан архітектоники крипт, наявність ерозій, виразок, крипт-абсцесів, атрофії, фіброзу, набряку. Для досягнення поставленої мети пацієнти з ХК були розподілені на дві групи: із фібротичними змінами стінки кишечника (n = 10) та без фіброзу (n = 28).

Для виготовлення парафінових гістологічних препаратів матеріал фіксувався у 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювався у спиртах висхідної концентрації та заливався в парафін. Для вивчення загальної гістологічної структури СО ТК зрізи товщиною 5–7 мкм забарвлювалися за стандартною методикою гематоксилін-еозином. Забарвлення на фіброз проводили за методом Малорі — Слінченка.

Для морфометричного дослідження зрізи, забарвлені гематоксиліном і еозином, фотографувалися за допомогою світлового мікроскопа XSP-139TP (Ulab, Україна) та вимірювалися за допомогою програмного забезпечення ImageJ 1.45S (National Institutes of Health, США). Морфометричні дослідження гістологічних препаратів включали: вимірювання висоти поверхневого епітелію (мкм), висоти епітелію крипт (мкм), ширини крипт (мкм), глибини крипт (мкм), товщини

слизової оболонки (мкм), кількості келихоподібних клітин епітелію крипт на 100 клітин, кількості нейтрофілів, еозинофілів, макрофагів, лімфоцитів, фіброblastів, плазмочитів інфільтрату на 1 мм² стромы.

Статистичне опрацювання результатів виконали за допомогою пакета прикладних програм Statistica 10.0. Статистичний аналіз отриманих даних включав розрахунок середнього значення показника (M) та помилки визначення середнього (m), а також кількості та частки якісних показників. Порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою непараметричного методу U-критерію Манна — Уїтні. Для перевірки нормальності вибірок використовували W-критерій Шапіро — Уїлка. Статистичну значущість оцінювали на рівні не нижче ніж 95 % (p < 0,05). Взаємозв'язки між показниками оцінювали за допомогою значущих коефіцієнтів кореляції Спірмена (r).

Результати та обговорення

Морфологічні зміни при ХК мали стандартну для цього захворювання картину нерівномірності ураження СО ТК. При оцінюванні морфологічних змін СО ТК в колонобіоптатах у 39,5 % випадків (15 па-

цієнтів) відмічалось порушення цілісності епітелію у вигляді виразок, дно більшості з яких було в межах власної пластинки (ВП) СО (рис. 1), та ерозій (36,8 %, або 14 пацієнтів). При цьому діаметр виразок становив 0,2–0,6 мм. Поверхню виразок покривав кубічний та плоский епітелій із проліферацією. Потрібно відмітити, що в наших дослідженнях колонобіопсій така морфологічна ознака, як гранульоми, не зустрічалась.

Відмічалось переривчасте запалення з інфільтрацією стінки кишечника лімфоцитами, нейтрофілами, плазмочитами. У 34,2 % хворих на ХК (13 пацієнтів) також виявляли порушення архітекtonіки крипт, набряк слизової оболонки був у 28,9 % пацієнтів (11 осіб), фібротичні зміни — у 26,3 % (10 хворих).

Запальні зміни в СО ТК в половині випадків (19 пацієнтів, або 50 %) характеризувались крововиливами у ВП, які за вираженістю були розподілені так: 23,7 % (9 пацієнтів) — мінімальні крововиливи; 18,4 % (7 пацієнтів) — помірні та 7,9 % (3 пацієнти) — значні крововиливи (рис. 2).

Зміни архітекtonіки крипт в основному включали такі структурні зміни форми та розміру, як потовщення в ділянці верхівки (вигляд «барабаних паличок»). Окремі крипти були розгалужені, вкорочені та атрофічні.

Також спостерігалась атрофія крипт у вигляді вкорочення їх довжини, розширення просвіту із заповненням його слизом або нейтрофільним інфільтратом (крипт-абсцеси). Зміни ВП між криптами характеризувались потовщеним шаром, наявністю в запальному інфільтраті нейтрофілів, еозинофілів, лімфоцитів, макрофагів та ФБ (рис. 3).

Виражена клітинна інфільтрація ВП СО вказує на хронічне запалення, активізацію імунної відповіді за рахунок лімфоцитів, а також антитоксичної та мікрофагоцитуючої дії нейтрофілів та еозинофілів ВП [17, 21].

Однією з патоморфологічних особливостей при ХК є нерівномірна щільність інфільтрату ВП СО. У наших дослідженнях ВП СО та підслизовий шар були характерно потовщені за рахунок інфільтрації, особливо у хворих із фіброзними змінами СО, що підтверджується позитивною кореляцією (p < 0,05; r = 0,45) між показниками клітинної щільності інфільтрату та наявністю фіброзу. Морфометричне дослідження колонобіоптатів показало, що в пацієнтів із фіброзними змінами стінки кишечника на одиницю площі щільність клітинного інфільтрату збільшувалась за рахунок нейтрофілів (p = 0,013) на 16,3 %, еозинофілів (p = 0,041) — на 13,1 %, ФБ (p = 0,004) — на 12,2 % (табл. 1).

Суттєвим показником активності захворювання є незмінена кількість келихоподібних клітин. Епітеліальна пластинка крипт в 62,2 % пацієнтів (23 особи) містила нормальну кількість келихоподібних клітин. Таке явище є характерним для ХК, бо при цьому захворюванні не порушується секреція слизу. У 37,8 % пацієнтів (14 осіб) чисельність клітин цього виду була зменшеною, що є показником зниженої продукції муцинового секрету залоз.

У нашому дослідженні відмічено, що в тих пацієнтів, які мали фібротичні зміни стінки кишечника, чисель-

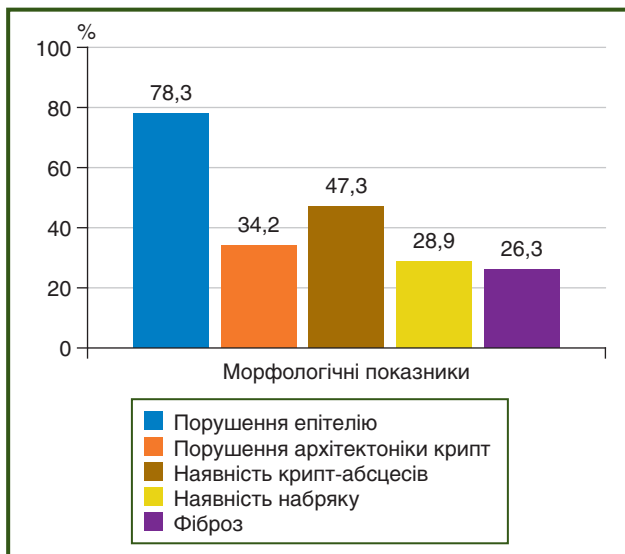


Рисунок 1 — Морфологічні показники зміни слизової оболонки товстого кишечника при хворобі Крона

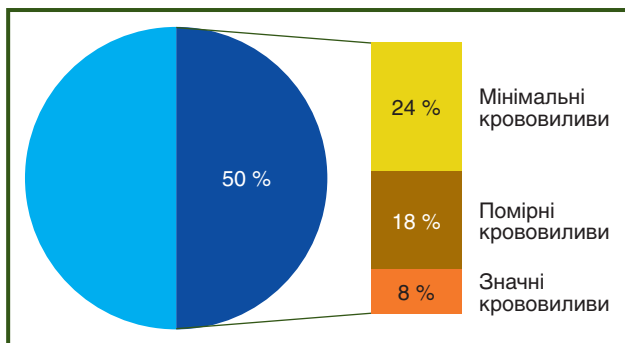


Рисунок 2 — Частота крововиливів у власну пластинку слизової оболонки товстого кишечника при хворобі Крона

ність ФБ у інфільтраті ВП СО була вірогідно підвищеною до $(2388,40 \pm 38,95)$ клітини на 1 мм^2 порівняно з пацієнтами без фіброзу — $(2096,50 \pm 54,94)$ клітини на 1 мм^2 ($p < 0,05$).

За даними табл. 1, середня товщина СО у хворих без фіброзу становила $(441,60 \pm 8,58)$ мкм, а з фіброзом — $(496,50 \pm 10,08)$ мкм ($p = 0,001$). Такі дані вказують на те, що хронічне запалення є предиктором розвитку фібротичних змін стінки кишечника (рис. 4).

Аналогічно у хворих із фіброзом СО ТК щільність клітинної інфільтрації була збільшена на 15 % ($p = 0,021$) (рис. 5).

У результаті кореляційного аналізу були виявлені взаємозв'язки між наявністю фіброзу та товщиною СО ($r = 0,60$; $p < 0,05$), клітинною щільністю інфільтрату ($r = 0,45$; $p < 0,05$), що, у свою чергу, може сприяти жорсткості тканин. Наші дані збігаються з роботою

S. O'Sullivan, де доведено взаємозв'язок наявності фіброзу стінки кишечника та виникнення ускладнень хірургічного характеру [22].

Гостра запальна реакція СО характеризується інфільтрацією великої кількості поліморфноядерних клітин у фазі відновлення. Цей процес ефективно проводиться макрофагами, які розпізнають поліморфноядерні клітини у стані апоптозу та швидко їх фагоцитують, тим самим запобігаючи впливу на сусідні клітини внутрішньоклітинного вмісту загиблених клітин. Локалізація запальних клітин мала як дифузний, так і вогнищевий характер і поширювалася або на власну пластинку, або на інтраепітеліальний компонент. Також потрібно відмітити, що загальна кількість макрофагів була значно нижчою в ділянках крипт, а основна маса макрофагів поширювалася по всій поверхні ВП. Відмічались позитивні кореляційні

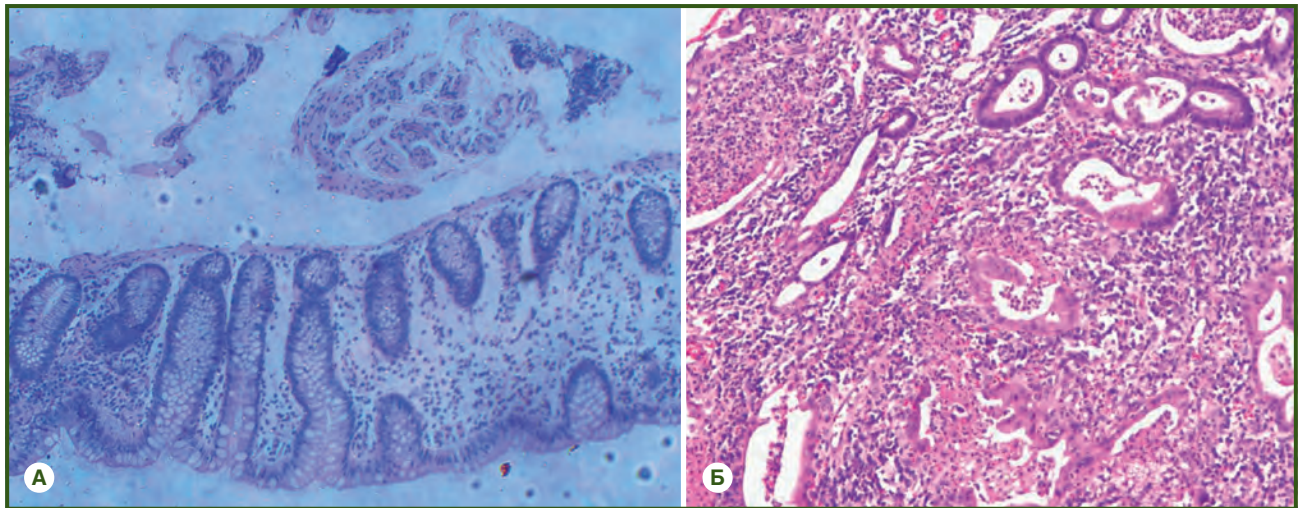


Рисунок 3 — Хвороба Крона: А) порушення архітектоніки крипт; Б) нейтрофільний інфільтрат власної пластинки в результаті розриву крипт-абсцесу. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 200$

Таблиця 1 — Морфометричні показники слизової оболонки товстого кишечника та склад запального інфільтрату при хворобі Крона залежно від наявності фіброзу ($M \pm m$)

Показники	Хворі без фіброзу (n = 28)	Хворі з фіброзом (n = 10)	Вірогідність різниці, p
Товщина слизової оболонки, мкм	441,60 ± 8,58	496,50 ± 10,08	0,001
Висота поверхневого епітелію, мкм	46,10 ± 1,57	44,50 ± 2,32	0,604
Глибина крипт, мкм	437,10 ± 8,42	472,10 ± 13,42	0,036
Ширина крипт, мкм	16,90 ± 0,77	17,50 ± 1,33	0,689
Висота епітелію крипт, мкм	32,20 ± 1,07	36,30 ± 1,23	0,030
Клітинна щільність інфільтрату, на 1 мм^2	17048,40 ± 562,42	19623,20 ± 972,40	0,021
Келихоподібні клітини крипт, на 100 клітин	26,50 ± 1,50	28,20 ± 1,91	0,534
Еозинофільні лейкоцити, на 1 мм^2	395,10 ± 11,02	454,50 ± 34,80	0,041*
Нейтрофільні лейкоцити, на 1 мм^2	325,80 ± 10,61	389,30 ± 26,51	0,013*
Плазмоцити інфільтрату, на 1 мм^2	4515,10 ± 85,28	4636,40 ± 124,34	0,452
Лімфоцити інфільтрату, на 1 мм^2	3827,40 ± 68,78	3957,70 ± 127,55	0,348
Фібробласти, на 1 мм^2	2096,50 ± 54,94	2388,40 ± 38,95	0,004*
Макрофаги, на 1 мм^2	610,80 ± 27,40	659,70 ± 53,43	0,384

Примітка. * — Значущість відмінностей між показниками за U-критерієм Манна — Уїтні.

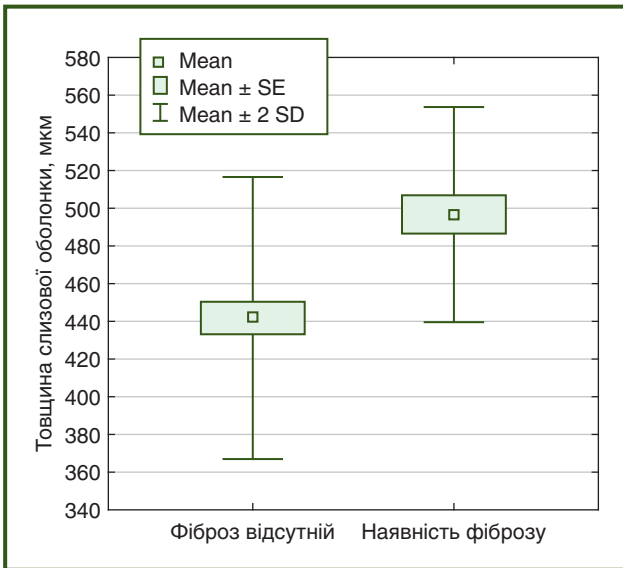


Рисунок 4 — Товщина слизової оболонки при хворобі Крона залежно від фіброзних змін в товстому кишечнику

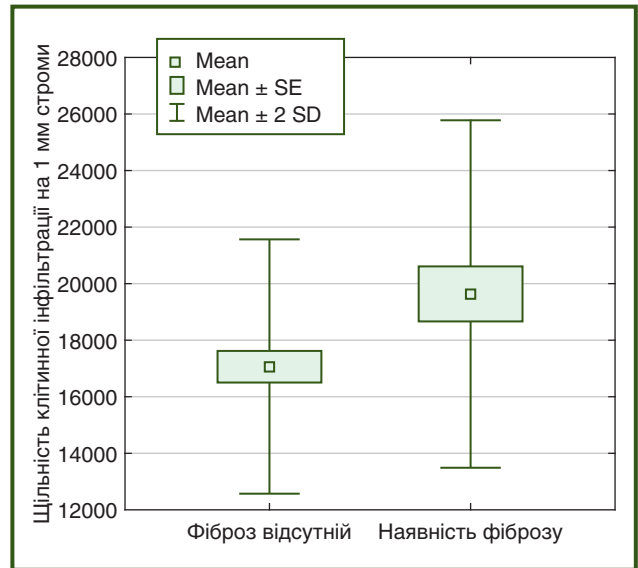


Рисунок 5 — Щільність клітинної інфільтрації при хворобі Крона залежно від фіброзних змін слизової оболонки товстого кишечника

зв'язки між наявністю фіброзу та високим вмістом нейтрофілів ($r = 0,47$; $p < 0,05$) та еозинофілів ($r = 0,39$; $p < 0,05$) в інфільтраті.

Такі показники, як висота та ширина крипт, також можна розцінювати як характеристику атрофії кишкових залоз, а глибина крипт асоціюється з розвитком фіброзних змін, що підтверджується виявленням позитивним кореляційним зв'язком між глибиною крипт і наявністю фіброзу ($r = 0,35$; $p < 0,05$).

Патогенез фіброзу контролюється/регулюється різними популяціями макрофагів, бо макрофаги майже завжди знаходяться біля ФБ, що продукують колаген і можуть регулювати фіброз незалежно від прямої взаємодії з міофібробластами за рахунок синтезу власних металопротейназ, які контролюють рівень ПКМ, секреції хемокінів, що рекрутують ФБ та інші запальні клітини, експресії імунорегуляторних медіаторів [16].

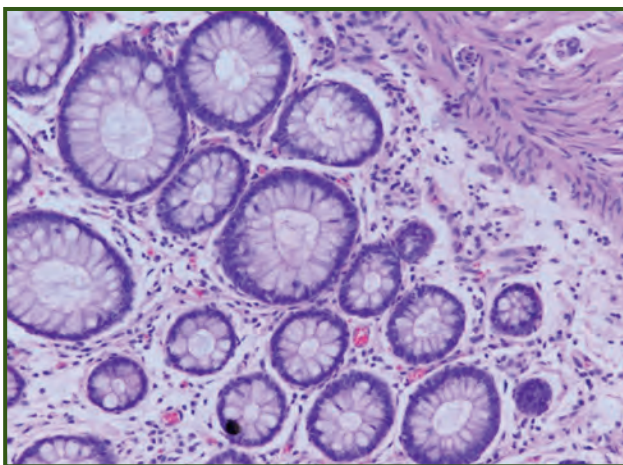


Рисунок 6 — Хвороба Крона. Скупчення ФБ та ділянки сполучної тканини. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 200$

За даними кореляційного аналізу нами було визначено прямиий взаємозв'язок між фіброзом стінки ТК та кількістю ФБ ($r = 0,57$; $p < 0,05$), порушенням епітелію ерозивного характеру ($r = 0,40$; $p < 0,05$) і висотою епітелію крипт ($r = 0,41$; $p < 0,05$). Отже, підвищена чисельність ФБ свідчить про активізацію фіброгенезу та може бути попередником в подальшому розвитку ускладнень у вигляді стенозу та стриктур. Наша думка не суперечить іншим дослідженням [15, 19]. На рис. 6 показані скупчення ФБ та ділянки сполучної тканини в колонобіоптатах при ХК.

З клінічно-морфологічної точки зору для надання об'єктивної оцінки встановлення гістологічного діагнозу найбільш інформативними є морфометричні параметри, які найбільш точно характеризують перебіг запального стану та репаративних процесів, відновлення морфофункціонального стану СО кишечника. Особливо інформативними є морфометричні показники при визначенні фібротичних змін при ХК [20].

Однією з характерних відмінностей ХК є нерівномірна інфільтрація ВП. Клітинна інфільтрація за своїм складом може мати суттєву різницю. В одній частині колонобіоптату в інфільтраті можуть переважати нейтрофіли або еозинофіли, в іншій — плазмочити та лімфоцити.

Виявлені зміни клітинного складу запального інфільтрату СО, особливо значною є гранулоцитарна (нейтрофільна та еозинофільна) інфільтрація поверхневого та глибокого шарів ВП, що відображає чітку вираженість запального процесу при формуванні ускладнень при ХК. Нейтрофільна поліморфна інфільтрація епітелію крипт (криптит), просвіту крипт (крипт-абсцеси) та поверхневого епітелію при ХК — досить часте морфологічне явище і зустрічається у 48–75 % випадків. У гострій стадії запалення СО ТК однією з найбільш виражених ознак є утворення крипт

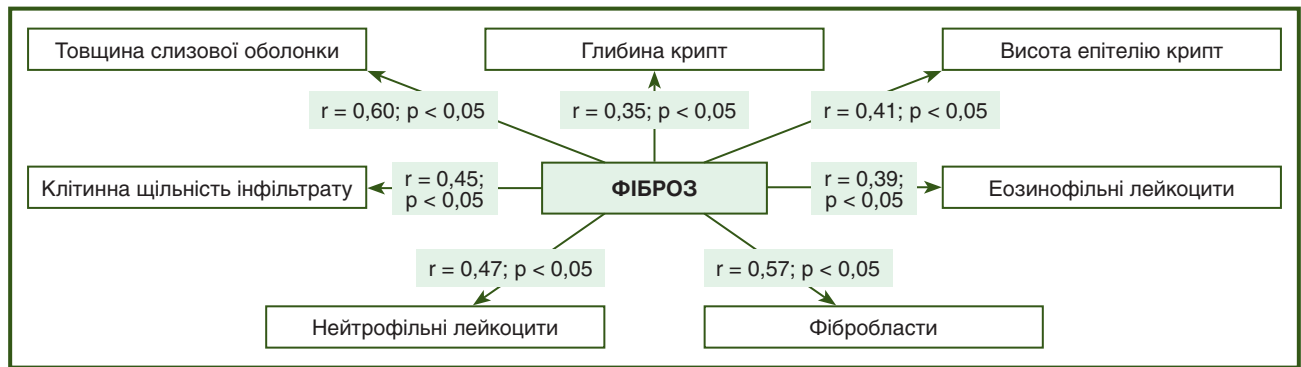


Рисунок 7 — Кореляційні взаємозв'язки між наявністю фіброзних змін кишечника та морфометричними показниками слизової оболонки при хворобі Крона

та абсцесів, що виникають у результаті надходження нейтрофілів в епітеліальну зону, а потім у просвіт кишечника. Більше того, накопичення нейтрофілів тісно пов'язане з активністю захворювання [23]. Таким чином можна пояснити активну нейтрофільну інфільтрацію СО у біопсійному матеріалі.

При проведенні аналізу кореляційних зв'язків складу клітинного інфільтрату з морфометричними показниками відмічали позитивну кореляцію між плазмодитами та висотою епітелію крипт ($r = 0,41$; $p < 0,05$) і шириною крипт ($r = 0,33$; $p < 0,05$); еозинофільними лімфоцитами та нейтрофільними лімфоцитами ($r = 0,36$; $p < 0,05$); лімфоцитами та висотою поверхнього епітелію ($r = 0,40$; $p < 0,05$).

Основним механізмом розвитку фібротичних змін кишечника є ріст та чисельне збільшення популяції ФБ. Потрібно зауважити, що ФБ при хронічних захворюваннях характеризуються більш високою швидкістю проліферації. Активація та проліферація ФБ запальними та протифібротичними медіаторами є основною дією в процесі нормального загоєння виразок та щілин СО [24]. Після закінчення стадії гострого запалення процес загоєння поступово зменшується, сполучна тканина набуває вигляду своєї первісної архітектури. У випадках ХК тривале та персистуюче запалення призводить до стійкої активації та проліферації ФБ. Але при цьому не слід забувати про те, що під час загоєння пошкодженої СО кишечника реорганізація ФБ колагену рубця призводить до зменшення площі пошкодженої ділянки кишечника та відповідного її скорочення [4]. Активовані міофібробласти ТК функціонують як основні медіатори фіброзу за рахунок надлишкового синтезу позаклітинного колагену, який надає жорсткості та активного скорочення та є додатковим механічним впливом на матрикс [1].

В нашому дослідженні було встановлено позитивні кореляційні зв'язки між морфометричними показниками та наявністю фіброзних змін СО ТК (рис. 7).

Таким чином, дуже важливим моментом є об'єктивна оцінка запалення та фіброзу кишечника при ХК, оскільки вони тісно пов'язані з вибором тактики лікування пацієнтів. Точне оцінювання ступеня та тяжкості запалення і/або фіброзу при ХК на сьогодні потребує гістопатологічного аналізу стінки кишечника та оцінювання її жорсткості.

Висновки

1. Морфометричне дослідження колонобіоптатів хворих на ХК показало, що в пацієнтів із фіброзними змінами стінки кишечника спостерігається більш щільний та глибокий інфільтрат ВП зі збільшенням кількості нейтрофілів на 16,3 % ($p < 0,05$) та еозинофілів на 13,1 % ($p < 0,05$) порівняно з хворими без фіброзу.

2. Підвищена кількість ФБ у хворих з ХК із фіброзом на 12,2 % ($p < 0,05$) свідчить про розвиток активного фібротичного процесу, а визначений кореляційний зв'язок між кількістю ФБ та фіброзом ($r = 0,57$; $p < 0,05$) — про доцільність застосування цього показника для оцінки поширення сполучної тканини в СО ТК при ХК.

3. Виявлені позитивні кореляції між наявністю фіброзу та порушенням епітелію ерозивного характеру ($r = 0,40$; $p < 0,05$) і висотою епітелію крипт ($r = 0,41$; $p < 0,05$) вказують на ймовірність розвитку дисрегенеративних процесів у ВП ТК та можливість прояву стриктур у хворих на ХК із фіброзними змінами СО кишечника.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

Інформація про фінансування. Робота виконується відповідно до плану наукових досліджень Державної установи «Інститут гастроентерології НАМН України».

Внесок авторів. *Гайдар Ю.А.* — проведення морфологічних досліджень, інтерпретація отриманих результатів; *Стойкевич М.В.* — збір клінічних даних, редагування тексту; *Милостива Д.Ф.* — концепція та дизайн дослідження, збір та проведення досліджень, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, написання статті; *Петішко О.П.* — статистична обробка матеріалу, редагування статті.

References

1. Cushing K, Higgins PDR. Management of Crohn Disease: A Review. *JAMA*. 2021 Jan 5;325(1):69-80. doi:10.1001/jama.2020.18936.
2. Bane O, Gee MS, Menys A, Dillman JR, Taouli B. Emerging Imaging Biomarkers in Crohn Disease. *Top Magn Reson Imaging*. 2021 Feb 1;30(1):31-41. doi:10.1097/RMR.0000000000000264.
3. Feuerstein JD, Cheifetz AS. Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Mayo Clin Proc*. 2017 Jul;92(7):1088-1103. doi:10.1016/j.mayocp.2017.04.010.

4. Chan WPW, Mourad F, Leong RW. Crohn's disease associated strictures. *J Gastroenterol Hepatol.* 2018 May;33(5):998-1008. doi:10.1111/jgh.14119.
5. Stewart DC, Berrie D, Li J, et al. Quantitative assessment of intestinal stiffness and associations with fibrosis in human inflammatory bowel disease. *PLoS One.* 2018 Jul 11;13(7):e0200377. doi:10.1371/journal.pone.0200377.
6. Schmoyer CJ, Saidman J, Bohl JL, Bierly CL, Kuemmerle JF, Bickston SJ. The Pathogenesis and Clinical Management of Stricture Crohn Disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2021 Oct 20;27(11):1839-1852. doi:10.1093/ibd/izab038.
7. Golusda L, Kühl AA, Siegmund B, Paclik D. Extracellular Matrix Components as Diagnostic Tools in Inflammatory Bowel Disease. *Biology (Basel).* 2021 Oct 11;10(10):1024. doi:10.3390/biology10101024.
8. Barnhoorn MC, Hakuno SK, Bruckner RS, Rogler G, Hawinkels LJAC, Scharl M. Stromal cells in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis.* 2020 Jul 30;14(7):995-1009. doi:10.1093/ecco-jcc/jjaa009.
9. Zhan S, Li N, Liu C, et al. Intestinal fibrosis and gut microbiota: clues from other organs. *Front Microbiol.* 2021 Jul 16;12:694967. doi:10.3389/fmicb.2021.694967.
10. Alfredsson J, Wick MJ. Mechanism of fibrosis and stricture formation in Crohn's disease. *Scand J Immunol.* 2020 Dec;92(6):e12990. doi:10.1111/sji.12990.
11. Chen W, Lu C, Hirota C, Iacucci M, Ghosh S, Gui X. Smooth Muscle Hyperplasia/Hypertrophy is the Most Prominent Histological Change in Crohn's Fibrotic Bowel Strictures: A Semiquantitative Analysis by Using a Novel Histological Grading Scheme. *J Crohns Colitis.* 2017 Jan;11(1):92-104. doi:10.1093/ecco-jcc/jjw126.
12. D'Alessio S, Ungaro F, Noviello D, Lovisa S, Peyrin-Biroulet L, Danese S. Revisiting fibrosis in inflammatory bowel disease: the gut thickens. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2022 Mar;19(3):169-184. doi:10.1038/s41575-021-00543-0.
13. Hinz B. The myofibroblast: paradigm for a mechanically active cell. *J Biomech.* 2010 Jan 5;43(1):146-155. doi:10.1016/j.jbiomech.2009.09.020.
14. Sahebally SM, Burke JP, Chang KH, Kiernan MG, O'Connell PR, Coffey JC. Circulating fibrocytes and Crohn's disease. *Br J Surg.* 2013 Nov;100(12):1549-1556. doi:10.1002/bjs.9302.
15. Stidham RW, Xu J, Johnson LA, et al. Ultrasound elasticity imaging for detecting intestinal fibrosis and inflammation in rats and humans with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2011 Sep;141(3):819-826.e1. doi:10.1053/j.gastro.2011.07.027.
16. Nighot M, Ganapathy AS, Saha K, et al. Matrix Metalloproteinase MMP-12 Promotes Macrophage Transmigration Across Intestinal Epithelial Tight Junctions and Increases Severity of Experimental Colitis. *J Crohns Colitis.* 2021 Oct 7;15(10):1751-1765. doi:10.1093/ecco-jcc/jjab064.
17. Zhou GX, Liu ZJ. Potential roles of neutrophils in regulating intestinal mucosal inflammation of inflammatory bowel disease. *J Dig Dis.* 2017 Sep;18(9):495-503. doi:10.1111/1751-2980.12540.
18. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet.* 2017 Dec 23;390(10114):2769-2778. doi:10.1016/S0140-6736(17)32448-0.
19. Valatas V, Filidou E, Drygiannakis I, Kolios G. Stromal and immune cells in gut fibrosis: the myofibroblast and the scarface. *Ann Gastroenterol.* 2017;30(4):393-404. doi:10.20524/aog.2017.0146.
20. Burke JP, Mulsow JJ, O'Keane C, Docherty NG, Watson RW, O'Connell PR. Fibrogenesis in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 2007 Feb;102(2):439-448. doi:10.1111/j.1572-0241.2006.01010.x.
21. Barnhoorn MC, Hakuno SK, Bruckner RS, Rogler G, Hawinkels LJAC, Scharl M. Stromal Cells in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis.* 2020 Jul 30;14(7):995-1009. doi:10.1093/ecco-jcc/jjaa009.
22. O'Sullivan S, Gilmer JF, Medina C. Matrix metalloproteinases in inflammatory bowel disease: an update. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:964131. doi:10.1155/2015/964131.
23. Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol.* 2008 Jan;214(2):199-210. doi:10.1002/path.2277.
24. Fabián O, Kamaradová K. Morphology of inflammatory bowel diseases (IBD). *Cesk Patol.* 2022 Spring;58(1):27-37.
25. Feuerstein JD, Cheifetz AS. Crohn Disease: Epidemiology, Diagnosis, and Management. *Mayo Clin Proc.* 2017 Jul;92(7):1088-1103. doi:10.1016/j.mayocp.2017.04.010.
26. Truffi M, Sorrentino L, Monieri M, et al. Inhibition of Fibroblast Activation Protein Restores a Balanced Extracellular Matrix and Reduces Fibrosis in Crohn's Disease Strictures Ex Vivo. *Inflamm Bowel Dis.* 2018 Jan 18;24(2):332-345. doi:10.1093/ibd/izx008.

Отримано/Received 24.07.2022

Рецензовано/Revised 05.08.2022

Прийнято до друку/Accepted 16.08.2022 ■

Information about authors

U.A. Gaydar, PhD, Manager the pathomorphology of the State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; yuriigaidar14@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-8284-0908>
 Stoikevich M.V., PhD, Head of the Department of intestinal diseases, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: stoykevich.marina@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-6111-7267>
 Mylostyva D.F., PhD, Senior Researcher the pathomorphology, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: mylostivad@i.ua; <https://orcid.org/0000-0002-3609-776x>
 O.P. Petishko, Researcher of the Department of scientific-organizational, methodical work and information technologies, State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine; e-mail: petishko_oksana@i.ua; <https://orcid.org/0000-0002-4559-4055>

Conflicts of interests. Authors declare the absence of any conflicts of interests and own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of the manuscript.

Information about funding. The work is performed in accordance with the research plan of the State Institution "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine".

Authors' contribution. Gaydar U.A. — collection and conduct of morphological tests, analysis of the results; Stoikevich M.V. — collection of clinical data, text editing; Mylostyva D.F. — concept and desing of research, collection and conduct of tests, statistical processing and analysis of the results, writing an article; Petishko O.P. — statistical processing of material, editing of the article.

U.A. Gaydar, M.V. Stoikevich, D.F. Mylostyva, O.P. Petishko

SI "Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine", Dnipro, Ukraine

Histo- and morphometric changes in the large intestine mucosa in Crohn's disease depending on the presence of fibrosis

Abstract. Background. One of the common complications of Crohn's disease is the development of fibrotic changes in the wall of the large intestine, and, as a result, the risk of strictures. Morphometric study of the cellular composition of large intestine biopsy samples is one of the extended links of the diagnostic criteria for inflammatory bowel diseases, which make it possible to predict the development of the disease. Changes in the number of fibroblasts, as components of mesenchymal cells, can be considered a protective reaction to the intestinal tissue damage. The purpose of the study was to reveal changes in the histo- and morphometric parameters of the large intestine mucosa depending on the development of intestinal fibrosis in Crohn's disease. **Materials and methods.** Colon biopsy samples from patients with Crohn's disease (n = 38) were examined histologically and morphometrically. According to morphological studies, patients were divided into two groups: with fibrotic changes in the intestinal wall (n = 10) and without fibrosis (n = 28). **Results.** Histologically, changes in the intestinal mucosa were observed in the form of altered integrity of the epithelium (78.3 %), crypt architectonics (34.2 %), mucosal edema (28.9 %), crypt abscesses (47.3 %). Fibrotic changes of the intestinal mucosa were found in 26.3 % of patients. The inflammatory infiltrate contained neutrophils, eosinophils, lymphocytes,

plasma cells, fibrocytes, and macrophages. At the same time, in the group of patients with Crohn's disease and fibrosis, the number of representatives of the inflammatory infiltrate was higher than in the group of patients with Crohn's disease without fibrosis. Patients with fibrotic changes in the intestinal wall were characterized by a higher density of inflammatory infiltrate the composition of which was dominated by macrophages and fibroblasts. Thickening of the intestinal mucosa was also observed in patients with fibrosis. The cause for such changes is the activation of the mechanism of fibrosis development against the background of inflammatory processes. Direct correlations were found between the fibrosis of the colon wall and the depth of crypts ($r = 0.35$; $p < 0.05$), the height of the crypt epithelium ($r = 0.41$; $p < 0.05$), cellular density of the infiltrate ($r = 0.45$; $p < 0.05$), the number of neutrophils ($r = 0.47$; $p < 0.05$), eosinophils ($r = 0.39$; $p < 0.05$), fibroblasts ($r = 0.57$; $p < 0.05$). **Conclusions.** In colon biopsy samples of patients with Crohn's disease and intestinal fibrosis, a denser and increased level of inflammatory infiltrate is noted. The active development of the fibrotic process is directly related to the high level of fibroblasts in the infiltrate.

Keywords: infiltrate; fibroblasts; inflammatory bowel diseases; cells; epithelium; fibrosis