

DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2026-59-06>
УДК 616.348-002.44-02:547.262:547.541]-092.9



Вплив етанолу та динітробензолсульфонової кислоти на процеси проліферації та запалення кишківника у щурів з індукованим виразковим колітом

Васильєва І.М., <https://orcid.org/0000-0002-4475-167X>, e-mail: im.vasylyeva@knmu.edu.ua

Наконечна О.А., <https://orcid.org/0000-0002-2614-1587>, e-mail: oa.nakonechna@knmu.edu.ua

Гаргін В.В., <https://orcid.org/0000-0001-8194-4019>, e-mail: vv.harhin@knmu.edu.ua

Ярмиш Н.В., <https://orcid.org/0000-0003-2798-4575>, e-mail: nv.yarmysh@knmu.edu.ua

Харківський національний медичний університет
Міністерства охорони здоров'я України, Харків, Україна

Effect of ethanol and dinitrobenzenesulfonic acid on the processes of proliferation and inflammation of the intestine in rats with induced ulcerative colitis

Vasylyeva I.M., <https://orcid.org/0000-0002-4475-167X>, e-mail: im.vasylyeva@knmu.edu.ua

Nakonechna O.A., <https://orcid.org/0000-0002-2614-1587>, e-mail: oa.nakonechna@knmu.edu.ua

Gargin V.V., <https://orcid.org/0000-0001-8194-4019>, e-mail: vv.harhin@knmu.edu.ua

Yarmysh N.V., <https://orcid.org/0000-0003-2798-4575>, e-mail: nv.yarmysh@knmu.edu.ua

Kharkiv National Medical University
of the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Ключові слова:

Ki-67, нейтрофіли, інтерлейкіни, виразковий коліт, щури.

Для кореспонденції:

Васильєва Ірина Михайлівна
Харківський національний медичний університет Міністерства охорони здоров'я України, кафедра біологічної хімії;
просп. Науки. буд. 4, м. Харків, Україна, 61022,
e-mail: im.vasylyeva@knmu.edu.ua

© Васильєва І.М., Наконечна О.А.,
Гаргін В.В., Ярмиш Н.В., 2026

РЕЗЮМЕ

Актуальність. Виразковий коліт – запальне рецидивуюче захворювання слизової оболонки кишківника. Враховуючи темпи захворюваності, коліт є глобальною проблемою світового сучасного суспільства. Одним з факторів розвитку та прогресування виразкового коліту є порушення регуляції імунних процесів захисту кишківника від пошкодження.

Мета роботи – вивчення морфометричних показників проліферації слизової оболонки товстої кишки на тлі визначення про- та протизапальних цитокінів, нейтрофілів у крові щурів з індукованим виразковим колітом, викликаним динітробензолсульфоновою кислотою.

Матеріали та методи. В експерименті було використано 42 дорослих щура обох статей. Тварин було розподілено на три групи по чотирнадцять тварин у кожній та змодельоване запалення кишківника ректальним введенням 2,4-динітробензолсульфонової кислоти впродовж 14 днів.

Результати. Отримані результати імуногістохімічного дослідження показали, що ректальне введення 50% розчину етанолу викликає збільшення проліферативної активності епітелію товстої кишки. Експресія Ki-67 корелює з рівнями інтерлейкінів у крові у моделі експериментального коліту. Вміст прозапальних та протизапальних інтерлейкінів у плазмі крові були підвищеними як у другій контрольній групі з введенням 50% розчину етанолу, так і в експериментальній групі тварин з введенням динітробензолсульфонової кислоти.

Висновки. Отримані результати вказують, що етанол провокує запалення слизової оболонки і може підвищувати проникність слизової оболонки, а введення динітробензолсульфонової кислоти може підсилювати пошкоджувальну дію на кишківник.

Для цитування:

Васильєва І.М., Наконечна О.А., Гаргін В.В., Ярмиш Н.В. Вплив етанолу та динітробензолсульфонової кислоти на процеси проліферації та запалення кишківника у щурів з індукованим виразковим колітом. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія Медицина*. 2026. Т. 34 № 2(59). С.255–268. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2026-59-06>

Keywords:

Ki-67, neutrophils, interleukins, ulcerative colitis, rats.

For correspondence:

Vasylyeva Irina Mykhailivna
Kharkiv National Medical University of the
Ministry of Health of Ukraine, Department
of Biological Chemistry;
4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022,
e-mail: im.vasylyeva@knmu.edu.ua

© Vasylyeva I.M., Nakonechna O.A.,
Gargin V.V., Yarmysh N.V., 2026

ABSTRACT

Background. Ulcerative colitis is an inflammatory recurrent disease of the intestinal mucosa. Given its prevalence, colitis is a global problem in modern society. One of the factors of the development and progression of ulcerative colitis is the disruption of immune processes that protect the intestine from damage.

Purpose – is to study morphological indicators of colon mucosal proliferation against the background of determining pro- and anti-inflammatory cytokines and neutrophils in the blood of rats with induced ulcerative colitis caused by dinitrobenzenesulfonic acid.

Materials and methods. The experiment involved 42 adult rats of both sexes. The animals were divided into three groups of fourteen animals each, and intestinal inflammation was induced by rectal administration of 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid over a period of 14 days.

Results. The obtained results of the immunohistochemical study showed that rectal administration of 50% ethanol solution causes an increase in the proliferative activity of the epithelium of the colon. The expression of Ki-67 correlates with the levels of interleukins in the blood in the model of experimental colitis. The content of pro-inflammatory and anti-inflammatory interleukins in the blood plasma were increased both in the second control group with the introduction of 50% ethanol solution and in the experimental group of animals with DNBS administration.

Conclusions. The obtained results indicate that ethanol provokes inflammation of the mucous membrane and can increase the permeability of the intestinal membrane, and the administration of DNBS can enhance the harmful effect on the intestine.

For citation:

Vasylyeva IM, Nakonechna OA, Gargin VV, Yarmysh NV. Effect of ethanol and dinitrobenzenesulfonic acid on the processes of proliferation and inflammation of the intestine in rats with induced ulcerative colitis. *The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series Medicine*. 2026;34(2(59)):255–268. DOI: <https://doi.org/10.26565/2313-6693-2026-59-06>

ВСТУП

Виразковий коліт (ВК) – це запальне рецидивуюче захворювання слизової оболонки кишківника, що проявляється болями у животі, діареєю, втратою маси тіла, ректальною кровотечею [1]. Враховуючи темпи захворюваності, коліт є глобальною проблемою світового сучасного суспільства, що охоплює всі вікові групи населення. На розвиток та прогресування ВК впливають багато факторів, зокрема порушення регуляції імунних процесів та дефекти з боку багаточислової системи захисту кишківника від пошкодження [2]. Особливостями запального процесу ВК є проникнення та накопичення імунних клітин в слизовій оболонці, що призводить до пошкодження та ранньої загибелі клітин кишківника [3]. Активовані запальні клітини вивільняють медіатори та хемотоксичні фактори, які ініціюють появу регульованих Т-клітин (Treg), що в подальшому ініціюють запалення. Нейтрофіли, як клітини імунної системи, є важливими компонентами відповіді на бактеріальні інфекції, механічні та фізичні чинники [4]. Нейтрофіліоз є загальною закономірністю перебігу багатьох запальних процесів. Ці клітини крові продукують прозапальні фактори, значну кількість активних форм кисню та активують редокс-чутливі запальні шляхи [5]. Активовані нейтрофіли також вивільняють нейтрофільні позаклітинні пастки (НПП), які, окрім ДНК, містять інші активні протеїни: гістони, катепсин G, нейтрофілну еластазу, металопротеїнази, мієлопероксидазу, кальпротектини та інші гранулярні білки, гідролази та антимікробні пептиди [6]. За фізіологічних концентрацій НПП активують секрецію протеїнів для знищення патогенів [7], але при надмірній секреції можуть підвищувати інтенсивність запального процесу, що призводить

INTRODUCTION

Ulcerative colitis (UC) is an inflammatory recurrent disease of the intestinal mucosa, manifested by abdominal pain, diarrhea, weight loss, and rectal bleeding [1]. Given its prevalence, colitis is a global problem in modern society affecting all age groups. Many factors influence the development and progression of UC, including impaired regulation of immune processes and defects in the multilayered system that protects the intestine from damage [2]. Features of the inflammatory process in IBD are the penetration and accumulation of immune cells in the mucous membrane, leading to damage and premature death of intestinal cells [3]. Activated inflammatory cells release mediators and chemotoxic factors that initiate the appearance of regulatory T-cells (Treg), which further initiate inflammation. Neutrophils, as cells of the immune system, are important components of the response to bacterial infections, mechanical and physical factors [4]. Neutrophilosis is a common feature of many inflammatory processes. These blood cells produce pro-inflammatory factors, significant amounts of reactive oxygen species, and activate redox-sensitive inflammatory pathways [5]. Active neutrophils release neutrophil extracellular traps (NETs), which, in addition to DNA, contain other active proteins: histones, cathepsin G, neutrophil elastase, metalloproteinases, myeloperoxidase, calprotectins, and other granular proteins, hydrolases, and antimicrobial peptides [6]. At physiological concentrations, NETs activate protein secretion to destroy pathogens [7], but excessive secretion can increase the intensity of the inflammatory process, leading to tissue damage [8]. These factors can influence the development and severity of UC by participating in immune and inflammatory responses.

до пошкодження тканин [8]. Ці фактори можуть впливати на розвиток та тяжкість перебігу ВК, беручи участь в імунних та запальних реакціях.

Мета роботи – вивчення морфометричних показників проліферації слизової оболонки товстої кишки на тлі визначення про- та протизапальних цитокінів, нейтрофілів у крові щурів з індукованим виразковим колітом, викликаним динітробензолсульфоною кислотою.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні було використано 42 дорослих щурів обох статей популяції WAG, масою 190–240 г, віком 4 місяці. Тварини утримувалися у стандартних умовах віварію. Експериментальні тварини отримували дієту згідно з нормативами *ad libitum*.

Згідно із завданням дослідження, експериментальних тварин було розподілено на три групи по чотирнадцять тварин у кожній та змодельовано запальне захворювання кишківника з використанням 2,4-динітробензолсульфонової кислоти. У першу (контрольну) групу увійшли тварини, яким ректально за допомогою зонда вводили 250 мкл розчину 0,9% фізіологічний розчину, тоді як тваринам другої контрольної групи вводили 250 мкл 50% розчину етанолу. До третьої експериментальної групи увійшли тварини, яким ректально вводили 250 мкл розчину 2,4-динітробензолсульфонової кислоти (ДНБС) (10 мг ДНБС, розчиненого у 250 мкл 50% етилового спирту), щоденно впродовж 14 днів [9, 10]. На 15-ту добу тварин виводили з експерименту шляхом цервікальної дислокації.

Тканини товстої кишки фіксувалися у 10% розчині формаліну протягом 24–48 годин та після рутинної проводки виготовлялися зрізи, які забарвлювали гематоксиліном та еозином за ван Гізоном та Рего [11].

Імуногістохімічне дослідження проводили шляхом постановки непрямой імунопероксидазної реакції з моноклональними антитілами (МКА) до Ki-67 фірми Thermo scientific. Реакція візуалізувалась за допомогою набору UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific). Мікропрепарати вивчали за допомогою мікроскопа «Olympus BX-41» з наступною обробкою результатів програмою «Olympus DP-soft version 3.2» [11]. Ступінь експресії рецепторів Ki-67 оцінювали шляхом підрахунку відсотка позитивно забарвлених клітин.

Для визначення вмісту інтерлейкінів IL-1 β , IL-4 та фактора некрозу пухлини альфа (ФНП α) у сироватці крові щурів використовували набори реагентів фірми «Abcam» (США) та «Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG». (Німеччина) з подальшим вимірюванням на імуноферментному аналізаторі Stat Fax 1904 згідно з інструкцією до наборів.

Відсоток нейтрофілів визначали за допомогою гематологічного аналізатора ABX Micros 60 ES, Франція (для аналізу використовували 10 мкл цільної крові).

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми GraphPad Prism 5 Software (США) з використанням непараметричного критерію Манна–Уїтні. Різниця між групами вважалася статистично значущою при $p < 0,05$.

Objective – is to study morphological indicators of colon mucosal proliferation against the background of determining pro- and anti-inflammatory cytokines and neutrophils in the blood of rats with induced ulcerative colitis caused by dinitrobenzenesulfonic acid.

MATERIALS AND METHODS OF RESEARCH

The study involved 42 adult rats of both sexes from the WAG population, weighing 190–240 g and aged 4 months. The animals were kept under standard vivarium conditions. The experimental animals received a diet according to *ad libitum* standards.

According to the research objectives, the experimental animals were divided into three groups, each consisting of fourteen animals, and inflammatory bowel disease was simulated using 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid. The first (control) group included animals that were administered 250 μ l of a 0.9% saline solution rectally using a probe, while the animals in the second control group were administered 250 μ l of a 50% ethanol solution. The third experimental group included animals that were administered 250 μ l of solution a 2,4-dinitrobenzenesulfonic acid (DNBS) rectally (10 mg DNBS dissolved in 250 μ l of 50% ethyl alcohol) daily for 14 days [9, 10]. On the 15th day, the animals were removed from the experiment by cervical dislocation.

Colon tissue was fixed in a 10% formalin solution for 24–48 hours; following routine processing sections were prepared and stained with hematoxylin and eosin, according to Van Gieson and Rego [11].

Immunohistochemical examination was performed by setting up an indirect immunoperoxidase reaction with monoclonal antibodies (MCA) to Ki-67 from Thermo Scientific. The reaction was visualized using the UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen kit (Thermo Scientific). The micropreparations were studied using an Olympus «BH-41 microscope», followed by processing of the results using the «Olympus DP-soft version 3.2 program» [11]. The degree of Ki-67 receptor expression was assessed by counting the percentage of positively stained cells.

To determine the content of interleukins IL-1 β , IL-4, and tumor necrosis factor alpha (TNF α) in rat blood serum, reagent kits from «Abcam» (USA) and «Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG». (Germany), followed by measurement on a Stat Fax 1904 immunoassay analyzer according to the kit instructions.

The percentage of neutrophils was determined using an ABX Micros 60 ES hematology analyzer, France (10 μ l of whole blood was used for analysis).

Statistical data processing was performed using GraphPad Prism 5 Software (USA) with the Mann–Whitney nonparametric criterion. The difference between groups was considered statistically significant at $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТИ

При макроскопічному дослідженні встановлено, що на всій довжині товщина стінки товстої кишки та характер вмісту кишківника однакові у тварин усіх груп. З боку слизової оболонки товстої кишки визначаються численні складки і крипти. Її поверхня блискуча, сірчато-синюшного кольору. У тварин, що увійшли до другої контрольної групи та групи щурів з експериментальним колітом, маємо слизову з ознаками набряку. Серозна оболонка гладка, блискуча. Патологічних накладень на поверхні та ознак спайкового процесу не визначено.

При гістологічному дослідженні у тварин усіх груп не виявлено змін у багатшаровості кишківника: стінка кишки представлена слизовою оболонкою, підслизовою основою, м'язовою та серозною оболонками. Слизова оболонка складається з великої кількості трубчатих залоз, розташованих вертикально, і покрита на всьому протязі одношаровим циліндричним епітелієм.

У групі щурів з експериментальним колітом визначається наявність ерозій, окремих виразкових дефектів, що проникають за межі власної пластинки, з наявністю грануляційної тканини, фібриноідного некрозу та ексудату. Частина клітин слизової оболонки цієї групи сплюснена, що можна розглядати як ознаку реституції (відновлення до первинного стану), яка передбачає швидке закриття дефекту шляхом міграції незрілих клітин з верхніх відділів крипт до поверхні (рис. 1, 2). Відзначається збільшення проліферативної активності епітеліальних клітин, що відображається у збільшенні кількості мітотичних фігур, що корелює зі ступенем пошкодження слизової оболонки кишківника.

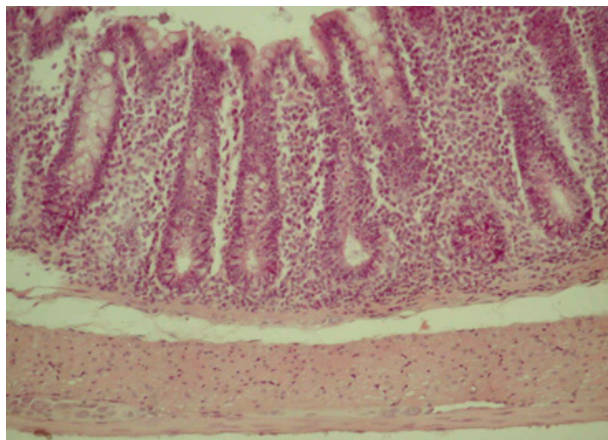


Рис. 1. Формування гострого коліту, наявність нейтрофілів та лімфоцитів в ексудаті, поверхневі ерозії. Забарвлення гематоксилином та еозином, x200
Fig. 1. Formation of acute colitis, presence of neutrophils and lymphocytes in exudate, superficial erosions. Hematoxylin and eosin staining, x200

При проведенні імуногістохімічного дослідження МКА до Ki-67, встановлено позитивну ядерну реакцію до цього протеїну. В результаті морфометричного дослідження встановлено достовірне підвищення індексу проліферації, що зображено на рис. 3.

RESULTS

Macroscopic examination showed that the thickness of the colon wall along its entire length and the nature of the intestinal contents were the same in animals of all groups. Numerous folds and crypts are visible on the mucous membrane of the colon. Its surface is shiny, grayish-blue in color. In animals included in the second control group and the group of rats with experimental colitis, we observed mucosa with signs of edema. The serous membrane was smooth and shiny. No pathological overlaps on the surface or signs of adhesions were identified.

Histological examination of animals in all groups revealed no changes in the multilayered structure of the intestine: the intestinal wall consists of a mucous membrane, submucosal layer, muscular layer, and serous membrane. The mucous membrane consists of a large number of tubular glands arranged vertically and covered throughout with a single layer of cylindrical epithelium.

In a group of rats with experimental colitis, the presence of erosions and isolated ulcerative defects penetrating beyond the limits of the lamina propria is determined, with the presence of granulation tissue, fibrinoid necrosis, and exudate. Some of the cells of the mucous membrane in this group are flattened, which can be considered a sign of restitution (return to the original state), accompanied by rapid closure of the defect due to the migration of immature cells from the upper parts of the crypts to the surface (Fig. 1–2). There is an increase in the proliferative activity of epithelial cells, which is reflected in an increase in the number of mitotic figures, correlating with the degree of damage to the mucous membrane.

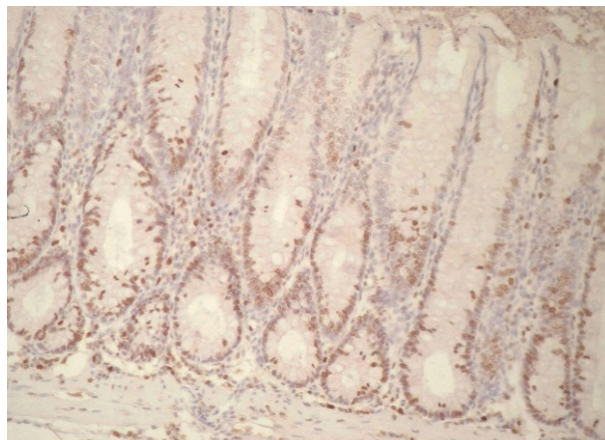


Рис. 2. Висока проліферативна активність епітеліоцитів товстої кишки. ІГХ з МКА до Ki-67, x200
Fig. 2. High proliferative activity of colon epithelial cells. IHC with MCA to Ki-67, x200

During immunohistochemical examination of MCA to Ki-67, a positive nuclear reaction to this protein was established. As a result of morphometric examination, a significant increase in the proliferation index was established, as shown in Figure 3.

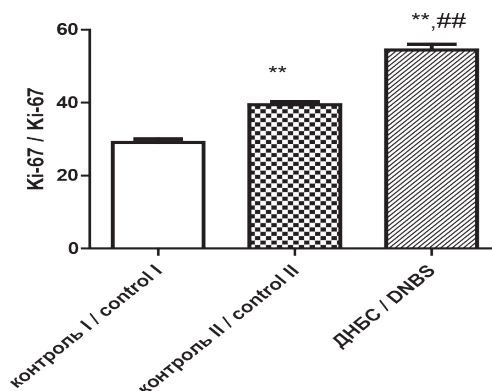


Рис. 3. Визначення експресії Ki-67 епітеліоцитами товстої кишки експериментальних тварин з хронічним ВК, викликаним введенням ДНБС
Fig. 3. Determination of Ki-67 expression by colon epithelial cells of experimental animals with chronic UC induced by DNBS administration

Примітки / Notes:

** – $p < 0,01$ у порівнянні з показниками першої контрольної групи;

– $p < 0,01$ у порівнянні з показниками другої контрольної групи.

** – $p < 0.01$ compared to the first control group;

– $p < 0.01$ compared to the second control group.

У структурі слизової оболонки товстої кишки щурів усіх груп дослідження визначаються лімфатичні фолікули. Але треба відзначити, якщо в першій контрольній групі з фізіологічним розчином вони визначаються як окремі клітини, то в контрольній групі з етиловим спиртом та групі з експериментальним колітом лімфоцити визначаються як групові накопичення клітин, так й як інфільтрати у власній пластинці слизової. При цьому у групі щурів з експериментальним колітом в інфільтраті виявлено нейтрофіли, зокрема з проникненням в епітелій крипт та їхній просвіт, що корелювало з пошкодженням і руйнуванням крипт. Вищезазначена гістологічна картина групи щурів з експериментальним колітом свідчить про успішність його моделювання.

В експериментальному дослідженні на щурах із змодельованим неспецифічним ВК, проводилися клінічні та біохімічні дослідження. Відсоток нейтрофілів у цільній крові щурів з ВК, спричиненим введенням ДНБС, був підвищеним та статистично значущим ($p < 0,01$) порівняно з першою та другою контрольними групами на 48,91% та 22,83%, відповідно. Що стосується другої контрольної групи з введенням 50% розчину етанолу у порівнянні з першою контрольною групою відзначаємо подібну тенденцію (рис. 4).

В експериментальному дослідженні на щурах з ДНБС-індукованим ВК показано, що рівень ФНП α у сироватці крові щурів другої контрольної групи та експериментальної групи був підвищеним ($24,20 \pm 2,01$ та $46,02 \pm 8,2$ пг/мл, відповідно) порівняно з першою контрольною групою ($12,60 \pm 3,06$ пг/мл; $p < 0,01$). Крім того, відзначається достовірна різниця рівня ФНП α у крові тварин між експериментальною групою з індукованим ВК та другою контрольною групою, яким ректально вводили 50% розчин етанолу ($p < 0,01$) (рис. 5).

Відповідно отриманим результатам, вміст прозапального цитокіну IL-1 β , та протизапального цитокіну IL-4 у плазмі крові щурів з ДНБС-індукованим виразковим колітом підвищувався та був статистично

Lymphatic follicles are found in the structure of the mucous membrane of the colon of rats in all study groups. However, it should be noted that while in the first control group with saline solution they are identified as individual cells, while in the control group with ethyl alcohol and the group with experimental colitis, lymphocytes were identified as group clusters of cells and as infiltrates in the lamina propria of the mucosa. At the same time, in the group of rats with experimental colitis, the presence of neutrophils was established among the infiltrate, including their penetration into the epithelium of the crypts and into the lumen of the crypts, which correlates with the damage and destruction of the latter. The above-described histological picture of the group of rats with experimental colitis indicates the success of its modelling.

Clinical and biochemical studies were conducted as part of an experimental study on rats with modelled non-specific UC. The percentage of neutrophils in whole blood of rats with UC caused by the DNBS administration was elevated and statistically significant ($p < 0.01$) compared to the first and second control groups by 48.91% and 22.83%, respectively. As for the second control group with 50% ethanol solution administration, we observe a similar trend compared to the first control group (Fig. 4).

An experimental study in rats with DNBS-induced UC showed that the serum level of TNF α in rats in the second control group and the experimental group were elevated (24.20 ± 2.01 and 46.02 ± 8.2 pg/ml, respectively) compared to the first control group (12.60 ± 3.06 pg/ml; $p < 0.01$). In addition, there is a significant difference in the level of TNF α in the blood of animals between the experimental group with induced UC and the second control group, which was received a 50% ethanol solution rectally ($p < 0.01$) (Fig. 5).

According to the results obtained, the content of pro-inflammatory cytokine IL-1 β and anti-inflammatory cytokine IL-4 in the blood plasma of rats with DNBS-induced ulcerative colitis increased and was statistically significant

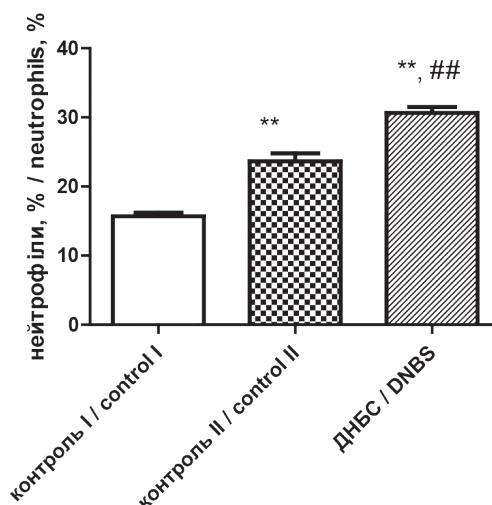


Рис. 4. Відсоток нейтрофілів у крові експериментальних тварин з хронічним ВК, викликаним введенням ДНБС
Fig. 4. Percentage of neutrophils in the blood of experimental animals with chronic UC caused by the introduction of DNBS

Примітки / Notes:

- ** – $p < 0,01$ у порівнянні з показниками першої контрольної групи;
– $p < 0,01$ у порівнянні з показниками другої контрольної групи.
** – $p < 0.01$ compared to the first control group;
– $p < 0.01$ compared to the second control group.

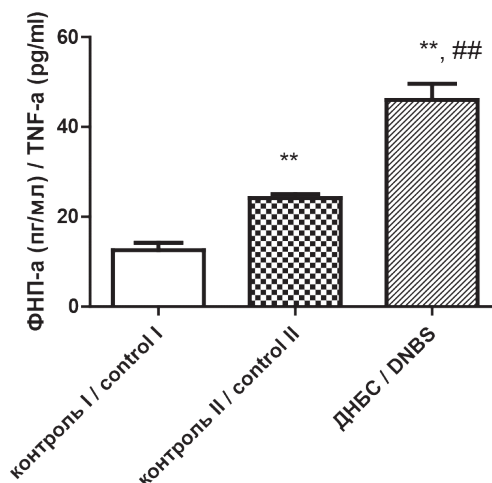


Рис. 5. Вміст фактора некрозу пухлини альфа (ФНП-α) (пг/мл) у сироватці крові щурів у контрольних групах та в експериментальній моделі з введенням ДНБС
Fig. 5. Level of tumor necrosis factor alpha (TNF-α) (pg/ml) in the blood serum of rats of the control groups and of the experimental model with DNBS administration

Примітки / Notes:

- ** – $p < 0,01$ у порівнянні з показниками першої контрольної групи;
– $p < 0,01$ у порівнянні з показниками другої контрольної групи.
** – $p < 0.01$ compared to the first control group;
– $p < 0.01$ compared to the second control group.

значущим для усіх досліджених показників ($p < 0,001$) порівняно з першою контрольною групою на 79,77% та 72,62%, відповідно. У другій контрольній групі з введенням 50% розчину етанолу порівняно до експериментальної групи тварин спостерігається статистично значуща різниця між показниками IL-1 β та IL-4 на 48,39% та 47,41%, відповідно (рис. 6, 7).

for all studied indicators ($p < 0.001$) compared to the first control group by 79.77% and 72.62%, respectively. In the second control group, which was administered a 50% ethanol solution, there was a statistically significant difference between the levels of IL-1 β and IL-4 by 48.39% and 47.41%, respectively compared to the experimental group of animals (Figs. 6, 7).

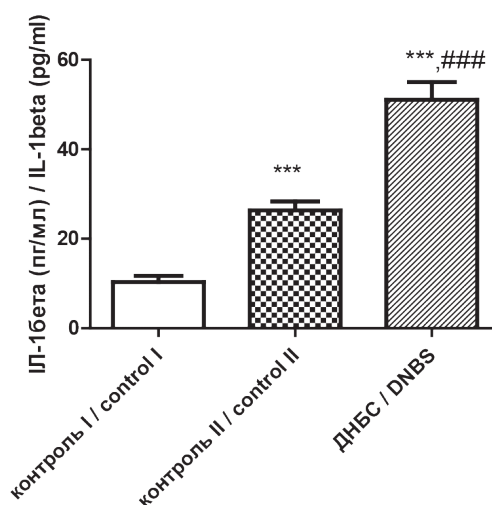


Рис. 6. Вміст цитокіну ІЛ-1β (пг/мл) у сироватці крові експериментальних тварин з хронічним ВК, викликаним введенням ДНБС
Fig. 6. Content of cytokine IL-1β (pg/ml) in the blood serum of experimental animals with chronic UC caused by the administration of DNBS

Примітки / Notes:

*** – $p < 0,001$ у порівнянні з показниками першої контрольної групи;
– $p < 0,001$ у порівнянні з показниками другої контрольної групи.
*** – $p < 0,001$ compared to the first control group;
– $p < 0,001$ compared to the second control group.

При порівнянні рівнів прозапальних та протизапальних інтерлейкінів у крові щурів другої контрольної групи з введенням 50% розчину етанолу по відношенню до першої контрольної групи з введенням 0,9% фізіологічного розчину спостерігається статистичне значуще підвищення усіх досліджених показників: ІЛ-1β – на 60,77%, ІЛ-4 – на 47,93% (рис. 6, 7).

When comparing the levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory interleukins in the second control group, which was administered a 50% ethanol solution, with those indicators in the first control group, which was administered a 0.9% saline solution, a statistically significant increase in all studied indicators was observed: IL-1β – by 60.77%, IL-4 by 47.93% (Figs. 6, 7).

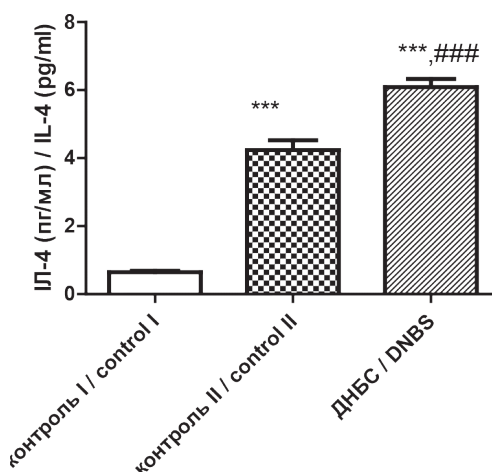


Рис. 7. Вміст цитокіну ІЛ-4 (пг/мл) у сироватці крові експериментальних тварин з хронічним ВК, викликаним введенням ДНБС
Fig. 7. Content of cytokine IL-4 (pg/ml) in the blood serum of experimental animals with chronic UC caused by the administration of DNBS

Примітки / Notes:

*** – $p < 0,001$ у порівнянні з показниками першої контрольної групи;
– $p < 0,001$ у порівнянні з показниками другої контрольної групи.
*** – $p < 0,001$ compared to the first control group;
– $p < 0,001$ compared to the second control group.

На основі отриманих результатів було визначено коефіцієнт співвідношення (КС) між прозапальними та протизапальними показниками. Коефіцієнти співвідношення ІЛ-1β/ІЛ-4 та ФНП α /ІЛ-4 можуть вказувати на стан прозапальної та протизапальної ланок імунної

Based on the results obtained, we determined the ratio coefficient (RC) between pro-inflammatory and anti-inflammatory indicators. The IL-1β/IL-4 and TNF α /IL-4 ratio coefficients may indicate the state of the pro-inflammatory and anti-inflammatory links of the immune response.

відповіді. Так, за нашими розрахунками, КС більше одиниці може свідчити про активацію прозапального процесу за рахунок підвищення рівнів прозапальних цитокінів, а КС менше одиниці може вказувати на перевагу активації протизапальної ланки імунної відповіді. У нашому експериментальному дослідженні нами отримані КС між ІЛ-1 β /ІЛ-4 (6,23 та 8,38) та ФНП α /ІЛ-4 (5,72 та 7,56) між другою контрольною та експериментальною групами, що може вказувати на пошкоджувальний ефект не тільки ДНБС, розведеного в етанолі, але й самого етанолу на ступінь запального процесу у кишківнику (рис. 8).

According to our calculations, a RC greater than 1.0 may indicate the activation of a pro-inflammatory process due to increased levels of pro-inflammatory cytokines, while a RC less than 1. may indicate the predominance of the activation of the anti-inflammatory link in the immune response. In our experimental study, we obtained RC between IL-1 β /IL-4 (6.23 and 8.38) and TNF α /IL-4 (5.72 and 7.56), which indicate the harmful effect not only of DNBS diluted in ethanol, but also of ethanol itself on the degree of the inflammatory process in the intestine (Fig. 8).

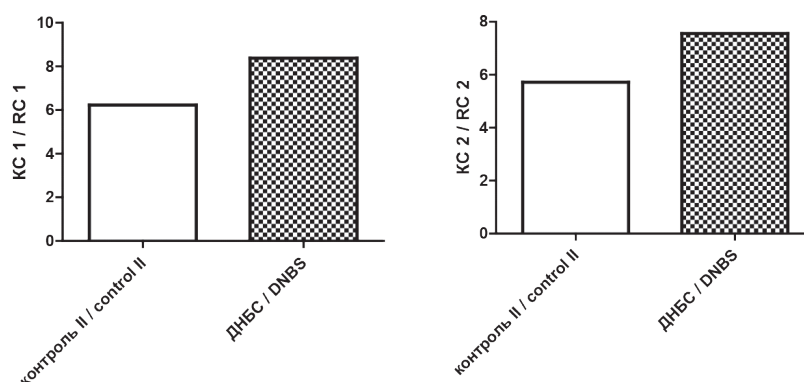


Рис. 8. Визначення коефіцієнтів співвідношення (КС)
Fig. 8. Determination of ratio coefficients (RC)

Примітки / Notes:

КС1 (прозапального ІЛ-1 β до протизапального ІЛ-4),
КС2 (прозапального ФНП α до протизапального ІЛ-4).
RC1 (proinflammatory IL-1 β to anti-inflammatory IL-4),
RC2 (proinflammatory TNF α to anti-inflammatory IL-4).

При визначенні кореляційних взаємозв'язків між експресією Ki-67 та вмістом інтерлейкінів у крові експериментальних тварин встановлені такі показники: Ki-67 та рівень ІЛ-1 β – $r = 0,81$; Ki-67 та рівень ІЛ-1 β – $r = 0,72$; Ki-67 та рівень ІЛ-4 – $r = 0,79$.

When determining the correlation between Ki-67 expression and interleukin content in the blood of experimental animals, the following indicators were established: Ki-67 and IL-1 β level – $r=0.81$; Ki-67 and IL-1 β level – $r=0.72$; Ki-67 and IL-4 level – $r=0.79$.

ОБГОВОРЕННЯ

Використання результатів гістологічного дослідження для оцінки ступеня тяжкості ВК засновано на дослідженні змін інтенсивності та складу клітинного інфільтрату власної пластинки, які оцінюються в гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном та еозинном, що дозволяє розрізнити стадії коліту та ремісії. Прогресування захворювання підтверджується наявністю нейтрофільних лейкоцитів в інфільтраті в поєднанні з ознаками пошкодження слизового епітелію. Неактивна фаза хронічного коліту характеризується наявністю структурних змін та збільшенням вмісту мононуклеарних клітин у власній пластинці [12, 13]. Під час ремісії наявні структурні зміни без збільшення інтенсивності та порушень у складі інфільтрату власної пластинки.

Для збереження архітектури тканини кишківника необхідний баланс між проліферацією, диференціацією та запрограмованою загибеллю клітин шляхом апоптозу [14]. Дослідження МКА до Ki-67 показали удвічі збільшену експресію рецепторів Ki-67 в епітеліальних

DISCUSSION

The use of histological examination results to assess the severity of UC is based on the study of changes in the intensity and composition of the cellular infiltrate of the lamina propria, which are evaluated in histological preparations stained with hematoxylin and eosin, allowing differentiation between stages of colitis and remission. The progression of the disease is confirmed by the presence of neutrophilic leukocytes in the infiltrate combined with signs of damage to the mucosal epithelium. The inactive phase of chronic colitis is characterized by structural changes and an increase in the content of mononuclear cells in the lamina propria [12, 13]. During remission, structural changes are present without an increase in intensity and disturbances in the composition of the lamina propria infiltrate.

To preserve the architecture of intestinal tissue, a balance is needed between proliferation, differentiation, and programmed cell death through apoptosis [14]. MCA to Ki-67 studies showed a twofold increase in the expression of Ki-67 receptors in the epithelial cells of the

клітинах товстої кишки тварин як у другій контрольній групі, так й у групі щурів з ДНБС-індукованою моделлю ВК.

Проліферація – це процес з численними механізмами регуляції, а експресія білка Ki-67, як відомо, у клітинах притаманна періоду активного мітозу (G1-, S-, G2- і М-фази), окрім фази G0. У нашому дослідженні найбільш активний проліферативний процес виявлено на тлі розвитку запалення (група експериментального коліту). При цьому, підвищення рівня експресії в другій контрольній групі також може бути результатом розвитку запального процесу у відповідь на ректальне введення розчину етанолу, враховуючи наявні кореляційні зв'язки проліферативних індексів та вміст про- та протизапальних інтерлейкінів у крові щурів.

Запальний процес слизової оболонки товстої кишки пов'язаний зі збільшенням проліферації епітелію з морфологічною перебудовою слизової оболонки, що передбачає значну адаптацію елементів сполучної тканини власної пластинки [15, 16]. Проте, порівнюючи з раніше опублікованими результатами інших авторів [17], дані нашої роботи підкреслюють суттєву роль цілісності кишкового бар'єру та кишкової проникності щодо ступеня тяжкості захворювання.

Обмеження нашого дослідження пов'язане з прямою інтерпретацією даних, отриманих експериментальним шляхом для патологічних процесів та нозологічних одиниць захворювань людини. Таким чином, експериментальні дані дозволяють уникнути впливу соціальних факторів та іншої соматичної патології.

В останні роки описаний новий тип лімфоцитів, який відомий як вроджені лімфоїдні клітини (ВЛК), що поділяються на 3 групи (ВЛК 1, ВЛК 2 та ВЛК 3). Ці клітини секретують ефекторні цитокіни та можуть регулювати активність запального процесу [18]. При ВК спостерігається підвищення ВЛК1 та ВЛК2. ВЛК3 є основним джерелом IL-22, який є посередником у захисті епітеліального бар'єру. Але зниження активності ВЛК3 може вказувати на порушення цілісності кишкового бар'єру [19]. Згідно з даними інших науковців, в тканинах товстої кишки при виразковому коліті часто спостерігається збільшення кількості макрофагів M1 і зменшення кількості макрофагів M2, що може викликати диспропорцію між макрофагами M1 і M2, яка тісно корелює з прогресуванням виразкового коліту [20]. Протизапальна дія IL-4 проявляється активацією лімфоцитів та поляризацією макрофагів M2. Що стосується макрофагів M2, вони вважаються ознакою регенерації тканин, а з іншого боку, можуть викликати підвищену протизапальну активність [21, 22, 23].

Leclercq S. et al. (2017) показали, що алкоголь та порушення мікробіоти кишківника активують синтез прозапальних факторів [24]. Крім того, алкоголь призводить до пошкодження кишкового бар'єру, підвищуючи вміст цитокінів [25], що також узгоджується з нашими попередніми даними [26]. Алкоголь може змінювати якісний склад мікробіоти та рівень антигенів, що призводить до підвищеної продукції ліпополісахариду (ЛПС). ЛПС, як продукт мікробіоти кишківника, активує Toll-подібні рецептори 4, які ініціюють появу прозапальних цитокінів [24]. Так, згідно з отриманими нами даними, рівень прозапального цитокіну IL-1 β у крові підвищувався як у другій контрольній групі

colon of animals in both the second control group and the group of rats with DNBS-induced UC model.

Proliferation is a process with numerous regulatory mechanisms, and it is known that Ki-67 protein expression is characteristic of cells during active mitosis (G1-, S-, G2-, and M- phases), except for the G0 phase. In our study, the most active proliferative process was found against the background of inflammation (experimental colitis group). At the same time, the increase in expression levels in the second control group may also be a consequence of the development of the inflammatory process in response to rectal administration of ethanol solution, given the existing correlations between proliferative indices and the content of pro- and anti-inflammatory interleukins in the blood of rats.

The inflammatory process of the colon mucosa is associated with increased epithelial proliferation with morphological restructuring of the mucosa, which involves significant adaptation of the connective tissue elements of the lamina propria [15, 16]. However, compared with previously published results by other authors [17], our data emphasize the essential role of intestinal barrier integrity and intestinal permeability in the severity of the disease.

The limitation of our study is related to the direct interpretation of data obtained experimentally for pathological processes and nosological units of human diseases. Thus, experimental data allow us to avoid the influence of social factors and other somatic pathologies.

In recent years, a new type of lymphocyte has been described, known as innate lymphoid cells (ILCs), which are divided into three groups (ILC 1, ILC 2, and ILC 3). These cells secrete effector cytokines and can regulate the activity of the inflammatory process [18]. In CD, there is an increase in CLT1 and CLT2. CLT3 is the main source of IL-22, which mediates the protection of the epithelial barrier. However, a decrease in CLT3 activity may indicate a disruption of the intestinal barrier integrity [19]. According to other researchers, ulcerative colitis often causes an increase in the of M1 macrophages and a decrease in the of M2 macrophages in the colon tissue, which can lead to an imbalance between M1 and M2 macrophages, closely correlated with the progression of ulcerative colitis [20]. The anti-inflammatory effect of IL-4 manifests itself in the activation of lymphocytes and the polarization of M2 macrophages. M2 macrophages are considered as an indicator of tissue regeneration, but on the other hand, they can cause increased anti-inflammatory activity [21, 22, 23].

Leclercq S. et al. (2017) showed that alcohol and gut microbiota disruption activate pro-inflammatory factors [24]. In addition, alcohol damages the intestinal barrier, increasing cytokine levels [25], which is also consistent with our previous data [26]. Alcohol can alter the qualitative composition of the microbiota and antigen levels, leading to increased lipopolysaccharide (LPS) production. LPS, as a product of the gut microbiota, activates Toll-like receptors 4, which initiate the appearance of pro-inflammatory cytokines [24]. Thus, according to our data, the level of pro-inflammatory cytokine IL-1 β in the blood was increased both in the second control group with the administration of a 50% ethanol solution and in the experimental group of animals

з введенням 50% розчину етанолу, так і у експериментальній групі тварин з ДНБС, порівняно з першою контрольною групою з введенням 0,9% фізіологічного розчину.

У попередніх дослідженнях Leclercq S. (2014) показано, що у людей, які страждають на хронічний алкоголізм, вміст IL-1 β і IL-8 у плазмі крові підвищується за рахунок активації шляху мітоген-активованої протеїнкінази/активаторного білка 1 [27] з подальшим підвищенням секреції сироваткового ФНП α та IL-10 [28]. Ці дані узгоджуються з результатами нашої роботи щодо формування виразкового коліту, викликаного введенням ДНБС. Так, в експерименті спостерігалось достовірне підвищення рівня прозапального фактора ФНП α , так і протизапального цитокіну IL-4 у плазмі крові як у другій контрольній групі з введенням 50% розчину етанолу, так і в експериментальній групі з введення ДНБС. Отримані результати свідчать, що етанол може провокувати запалення і підвищувати проникність слизової оболонки кишківника. Це може призвести до інвазії лейкоцитів та вивільнення медіаторів запалення, таких як активні форми кисню [29], лейкотрієни та гістамін [30]. Запальний процес, викликаний алкоголем [28] та зміною мікробіоти кишківника, що призводить до дисбактеріозу, викликає підвищення експресії металопротеїнази-9 в епітеліальних клітинах, що знижує активність гелеподібного муцину 2 (MUC-2) та синтез кишкового муцину [31].

Слід додати, що одним з подальших шляхів дослідження патогенезу розвитку запальних процесів кишківника, є визначення взаємозв'язку виявлених нами змін з порушенням мікроциркуляції, які є визначальними при численних патологічних процесах [32, 33] та які були виявлені раніше іншими дослідниками та нами при моделюванні коліту [13, 34].

ВИСНОВКИ

Ректальне введення 50% розчину етанолу викликає збільшення проліферативної активності епітелію товстої кишки. Що проявляється у позитивному кореляційному зв'язку між експресією Ki-67 та рівнем IL1 β у моделі експериментального коліту.

Неспецифічний хронічний ВК, викликаний введенням ДНБС, супроводжується підвищенням відсотка нейтрофілів у крові як у другій контрольній, так і в експериментальній групах щурів, що вказує на активацію запального процесу.

Експериментальний хронічний ВК у щурів супроводжується підвищенням рівня ФНП α та прозапального (IL-1 β) та протизапального (IL-4) інтерлейкінів у плазмі крові як у другій контрольній групі з введенням 50% розчину етанолу, так і в експериментальній групі тварин з введенням ДНБС. Ці результати вказують, що етанол провокує запалення слизової оболонки й підвищує проникність слизової оболонки кишківника, а введення ДНБС може підсилювати запальний процес.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Wangchuk P., Yeshe K., Loukas A. Ulcerative colitis: clinical biomarkers, therapeutic targets, and emerging treatments. *Trends*

with DNBS, compared to the first control group with the administration of 0.9% saline solution.

Previous studies by Leclercq S. (2014) have shown that in people suffering from chronic alcoholism, the levels of IL-1 β and IL-8 in blood plasma increase due to the activation of the mitogen-activated protein kinase/activator protein 1 pathway [27] with a subsequent increase in serum TNF α and IL-10 secretion [28]. These data are consistent with the results of our work on the formation of ulcerative colitis caused by the administration of DNBS. Thus, in the experiment, a significant increase in the level of the pro-inflammatory factor TNF α and the anti-inflammatory cytokine IL-4 was observed in the blood plasma both in the second control group administered a 50% ethanol solution and in the experimental group administered DNBS. Results obtained indicate that ethanol can provoke inflammation and increase the permeability of the intestinal mucosa. This can lead to leukocyte invasion and the release of inflammatory mediators such as reactive oxygen species [29], leukotrienes, and histamine [30]. The inflammatory process caused by alcohol [28] and by changes in the intestinal microbiota, leading to dysbiosis, causes an increase in the expression of metalloproteinase-9 in epithelial cells, which reduces the activity of gelatinous mucin 2 (MUC-2) and the synthesis of intestinal mucin [31].

It should be added that one of the further ways of studying the pathogenesis of inflammatory processes in gut is to determine the relationship between the changes identified by us and impaired microcirculation, which are crucial in numerous pathological processes [32, 33] and which were previously identified by other researchers and us when modeling colitis [13, 34].

CONCLUSIONS

Rectal administration of a 50% ethanol solution causes an increase in the proliferative activity of the colon epithelium. This is manifested in a positive correlation between Ki-67 expression and IL-1 β levels in a model of experimental colitis.

Non-specific chronic UC caused by DNC administration is accompanied by an increase in the percentage of neutrophils in the blood in both the second control and experimental groups of rats, indicating activation of the inflammatory process.

Experimental chronic UC in rats is accompanied by an increase in the level of TNF α and proinflammatory (IL-1 β) and anti-inflammatory (IL-4) interleukins in blood plasma in both the second control group with the administration of a 50% ethanol solution and in the experimental group of animals with the administration of DNBS. These results indicate that ethanol provokes inflammation of the mucous membrane and increases the permeability of the intestinal mucosa, and the administration of DNBS may exacerbate the inflammatory process.

REFERENCES

1. Wangchuk P., Yeshe K., Loukas A. Ulcerative colitis: clinical biomarkers, therapeutic targets, and emerging treatments.

- in Pharmacological Sciences*. 2024. Vol. 45, № 10. P. 892–903. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2024.08.003>
2. Kobayashi T., Siegmund B., Le Berre C., Wei S.C., Ferrante M., Shen B., et al. Ulcerative colitis. *Nature Reviews Disease Primers*. 2020. Vol. 6, № 1. P. 74. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0205-x>
3. Liang Y., Li Y., Lee C., Yu Z., Chen C., Liang C. Ulcerative colitis: molecular insights and intervention therapy. *Molecular Biomedicine*. 2024. Vol. 5, № 1. P. 42. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43556-024-00207-w>
4. Frangou E., Chrysanthopoulou A., Mitsios A., Kambas K., Arelaki S., Angelidou I., et al. REDD1/autophagy pathway promotes thromboinflammation and fibrosis in human systemic lupus erythematosus (SLE) through NETs decorated with tissue factor (TF) and interleukin-17A (IL-17A). *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2019. Vol. 78, № 2. P. 238–248. DOI: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213181>
5. Zhou G., Zhu F., Zhang H., Wang Y., Yang Y., Jin G., et al. PTK2B regulates immune responses of neutrophils and protects mucosal inflammation in ulcerative colitis. *FASEB Journal*. 2023. Vol. 37, № 7. P. e22967. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.202201995RR>
6. Dwyer M., Shan Q., D'Ortona S., Maurer R., Mitchell R., Olesen H., et al. Cystic fibrosis sputum DNA has NETosis characteristics and neutrophil extracellular trap release is regulated by macrophage migration-inhibitory factor. *Journal of Innate Immunity*. 2014. Vol. 6, № 6. P. 765–779. DOI: <https://doi.org/10.1159/000363242>
7. Podolska M.J., Mahajan A., Hahn J., Knopf J., Maueröder C., Petru L., et al. Treatment with DNases rescues hidden neutrophil elastase from aggregated NETs. *Journal of Leukocyte Biology*. 2019. Vol. 106, № 6. P. 1359–1366. DOI: <https://doi.org/10.1002/JLB.3AB0918-370R>
8. Wright H.L., Lyon M., Chapman E.A., Moots R.J., Edwards S.W. Rheumatoid arthritis synovial fluid neutrophils drive inflammation through production of chemokines, reactive oxygen species, and neutrophil extracellular traps. *Frontiers in Immunology*. 2021. Vol. 11. P. 584116. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.584116>
9. Morampudi V., Bhinder G., Wu X., Dai C., Sham H.P., Vallance B.A., et al. DNBS/TNBS colitis models: providing insights into inflammatory bowel disease and effects of dietary fat. *Journal of Visualized Experiments*. 2014. № 84. P. e51297. DOI: <https://doi.org/10.3791/51297>
10. Wallace J.L., Le T., Carter L., Appleyard C.B., Beck P.L. Hapten-induced chronic colitis in the rat: alternatives to trinitrobenzene sulfonic acid. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 1995. Vol. 33, № 4. P. 237–239. DOI: [https://doi.org/10.1016/1056-8719\(95\)00001-x](https://doi.org/10.1016/1056-8719(95)00001-x)
11. Gargin V., Radutny R., Titova G., Bibik D., Kirichenko A., Bazhenov O. Application of the computer vision system for evaluation of pathomorphological images. *2020 IEEE 40th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*. Kyiv, Ukraine, 2020. P. 469–473. DOI: <https://doi.org/10.1109/ELNANO50318.2020.9088898>
12. Hung A., Calderbank T., Samaan M.A., Plumb A.A., Webster G. Ischaemic colitis: practical challenges and evidence-based recommendations for management. *Frontline Gastroenterology*. 2019. Vol. 12, № 1. P. 44–52. DOI: <https://doi.org/10.1136/fgastro-2019-101204>
13. Nakonechna O., Vyshnytska I., Vasylyeva I., Babenko O., Voitenko S., Bondarenko A., et al. The significance of ischemia for the proliferative activity of the mucosa in inflammatory bowel diseases. *Georgian Medical News*. 2022. № 328–329. P. 133–137. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36318857/>
14. Scheer A., Knauer S.K., Verhaegh R. Survivin expression pattern in the intestine of normoxic and ischemic rats. *BMC Gastroenterology*. 2017. Vol. 17, № 1. P. 76. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12876-017-0625-6>
15. Kondo A., Ma S., Lee M.Y.Y., Ortiz V., Traum D., Schug J., et al. Highly multiplexed image analysis of intestinal tissue sections in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2021. Vol. 161, № 6. P. 1940–1952. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.08.055>
16. Maseda D., Ricciotti E. NSAID-gut microbiota interactions. *Frontiers in Pharmacology*. 2020. Vol. 11. P. 1153. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01153>
17. Godskesen L.E., Lassen T.R., Jespersen N.R., Siersbæk M., Yan Y., Nielsen M.M., et al. Remote ischemic conditioning in active ulcerative colitis: an explorative randomized clinical trial. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, № 1. P. 9537. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65692-9>
18. Luo W., Tian L., Tan B., Shen Z., Xiao M., Wu S., et al. Update: innate lymphoid cells in inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences*. 2022. Vol. 67, № 1. P. 56–66. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10620-021-06831-8>
19. Schulz-Kuhnt A., Neurath M.F., Wirtz S., Atreya I. Innate lymphoid cells as regulators of epithelial integrity: therapeutic implications for inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Medicine*. 2021. Vol. 8. P. 656745. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.656745>
20. Zhu W., Yu J., Nie Y., Shi X., Liu Y., Li F., et al. Disequilibrium of M1 and M2 macrophages correlates with the development of experimental inflammatory bowel diseases. *Immunological Trends in Pharmacological Sciences*. 2024;45(10):892–903. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2024.08.003>
2. Kobayashi T., Siegmund B., Le Berre C., Wei SC, Ferrante M., Shen B, et al. Ulcerative colitis. *Nature Reviews Disease Primers*. 2020;6(1):74. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0205-x>
3. Liang Y, Li Y, Lee C, Yu Z, Chen C, Liang C. Ulcerative colitis: molecular insights and intervention therapy. *Molecular Biomedicine*. 2024;5(1):42. DOI: <https://doi.org/10.1186/s43556-024-00207-w>
4. Frangou E, Chrysanthopoulou A, Mitsios A, Kambas K, Arelaki S, Angelidou I, et al. REDD1/autophagy pathway promotes thromboinflammation and fibrosis in human systemic lupus erythematosus (SLE) through NETs decorated with tissue factor (TF) and interleukin-17A (IL-17A). *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2019;78(2):238–48. DOI: <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213181>
5. Zhou G, Zhu F, Zhang H, Wang Y, Yang Y, Jin G, et al. PTK2B regulates immune responses of neutrophils and protects mucosal inflammation in ulcerative colitis. *FASEB Journal*. 2023;37(7):e22967. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.202201995RR>
6. Dwyer M, Shan Q, D'Ortona S, Maurer R, Mitchell R, Olesen H, et al. Cystic fibrosis sputum DNA has NETosis characteristics and neutrophil extracellular trap release is regulated by macrophage migration-inhibitory factor. *Journal of Innate Immunity*. 2014;6(6):765–79. DOI: <https://doi.org/10.1159/000363242>
7. Podolska MJ, Mahajan A, Hahn J, Knopf J, Maueröder C, Petru L, et al. Treatment with DNases rescues hidden neutrophil elastase from aggregated NETs. *Journal of Leukocyte Biology*. 2019;106(6):1359–66. DOI: <https://doi.org/10.1002/JLB.3AB0918-370R>
8. Wright HL, Lyon M, Chapman EA, Moots RJ, Edwards SW. Rheumatoid arthritis synovial fluid neutrophils drive inflammation through production of chemokines, reactive oxygen species, and neutrophil extracellular traps. *Frontiers in Immunology*. 2021;11:584116. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.584116>
9. Morampudi V, Bhinder G, Wu X, Dai C, Sham HP, Vallance BA, et al. DNBS/TNBS colitis models: providing insights into inflammatory bowel disease and effects of dietary fat. *Journal of Visualized Experiments*. 2014;(84):e51297. DOI: <https://doi.org/10.3791/51297>
10. Wallace JL, Le T, Carter L, Appleyard CB, Beck PL. Hapten-induced chronic colitis in the rat: alternatives to trinitrobenzene sulfonic acid. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. 1995;33(4):237–9. DOI: [https://doi.org/10.1016/1056-8719\(95\)00001-X](https://doi.org/10.1016/1056-8719(95)00001-X)
11. Gargin V, Radutny R, Titova G, Bibik D, Kirichenko A, Bazhenov O. Application of the computer vision system for evaluation of pathomorphological images. *2020 IEEE 40th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*. Kyiv: IEEE; 2020:469–73. DOI: <https://doi.org/10.1109/ELNANO50318.2020.9088898>
12. Hung A, Calderbank T, Samaan MA, Plumb AA, Webster G. Ischaemic colitis: practical challenges and evidence-based recommendations for management. *Frontline Gastroenterology*. 2019;12(1):44–52. DOI: <https://doi.org/10.1136/fgastro-2019-101204>
13. Nakonechna O, Vyshnytska I, Vasylyeva I, Babenko O, Voitenko S, Bondarenko A, et al. The significance of ischemia for the proliferative activity of the mucosa in inflammatory bowel diseases. *Georgian Medical News*. 2022;(328–329):133–7. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36318857/>
14. Scheer A, Knauer SK, Verhaegh R. Survivin expression pattern in the intestine of normoxic and ischemic rats. *BMC Gastroenterology*. 2017;17(1):76. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12876-017-0625-6>
15. Kondo A, Ma S, Lee MYY, Ortiz V, Traum D, Schug J, et al. Highly multiplexed image analysis of intestinal tissue sections in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2021;161(6):1940–52. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2021.08.055>
16. Maseda D, Ricciotti E. NSAID-gut microbiota interactions. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11:1153. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01153>
17. Godskesen LE, Lassen TR, Jespersen NR, Siersbæk M, Yan Y, Nielsen MM, et al. Remote ischemic conditioning in active ulcerative colitis: an explorative randomized clinical trial. *Scientific Reports*. 2020;10(1):9537. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65692-9>
18. Luo W, Tian L, Tan B, Shen Z, Xiao M, Wu S, et al. Update: innate lymphoid cells in inflammatory bowel disease. *Digestive Diseases and Sciences*. 2022;67(1):56–66. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10620-021-06831-8>
19. Schulz-Kuhnt A, Neurath MF, Wirtz S, Atreya I. Innate lymphoid cells as regulators of epithelial integrity: therapeutic implications for inflammatory bowel diseases. *Frontiers in Medicine*. 2021;8:656745. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.656745>
20. Zhu W, Yu J, Nie Y, Shi X, Liu Y, Li F, et al. Disequilibrium of M1 and M2 macrophages correlates with the development of experimental inflammatory bowel diseases.

- Investigations*. 2014. Vol. 43, № 7. P. 638–652. DOI: <https://doi.org/10.3109/08820139.2014.909456>
21. Dhanda S.K., Gupta S., Vir P., Raghava G.P. Prediction of IL4 inducing peptides. *Clinical & Developmental Immunology*. 2013. Vol. 2013. P. 263952. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/263952>
 22. Lv Q., Xing Y., Liu Y., Chen Q., Xu J., Hu L., et al. Didymins switches M1-like toward M2-like macrophage to ameliorate ulcerative colitis via fatty acid oxidation. *Pharmacological Research*. 2021. Vol. 169. P. 105613. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105613>
 23. Лядова Т., Гладких Ф.В. Імунологічні механізми розвитку аутоімунного гастриту як передракового захворювання шлунка. *Каразінський імунологічний журнал*. 2024. Т. 7, № 2(14). С. 202–211. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-09>
 24. Leclercq S., de Timary P., Delzenne N.M., Stärkel P. The link between inflammation, bugs, the intestine and the brain in alcohol dependence. *Translational Psychiatry*. 2017. Vol. 7, № 2. P. e1048. DOI: <https://doi.org/10.1038/tp.2017.15>
 25. Chen G., Shi F., Yin W., Guo Y., Liu A., Shuai J., et al. Gut microbiota dysbiosis: the potential mechanisms by which alcohol disrupts gut and brain functions. *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 13. P. 916765. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916765>
 26. Васильєва І.М., Бабенко О.В., Наконечна О.А., Попова Л.Д., Войтенко С.А. Порівняльний аналіз двох видів контролю при формуванні експериментальної моделі хронічного виразкового коліту. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2021. № 4. С. 56–59. DOI: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2021.v.i4.12799>
 27. Leclercq S., De Saeger C., Delzenne N., de Timary P., Stärkel P. Role of inflammatory pathways, blood mononuclear cells, and gut-derived bacterial products in alcohol dependence. *Biological Psychiatry*. 2014. Vol. 76, № 9. P. 725–733. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.02.003>
 28. Leclercq S., Cani P.D., Neyrinck A.M., Stärkel P., Jamar F., Mikolajczak M., et al. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol-dependent subjects. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2012. Vol. 26, № 6. P. 911–918. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.04.001>
 29. Babenko O., Vasylyeva I., Nakonechna O., Popova L., Voitenko S., Pustova N. The viability of leukocytes and reactive oxygen species generation by them in rats with chronic colitis. *Wiadomosci Lekarskie*. 2022. Vol. 75, № 9 pt 2. P. 2270–2274. URL: <https://wiadomosci.lww.com/content/uploads/archive/2022/09/WLek2022092.pdf>
 30. Rocco A., Compare D., Angrisani D., Sanduzzi Zamparelli M., Nardone G. Alcoholic disease: liver and beyond. *World Journal of Gastroenterology*. 2014. Vol. 20, № 40. P. 14652–14659. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i40.14652>
 31. Shan M., Gentile M., Yeiser J.R., Walland A.C., Bornstein V.U., Chen K., et al. Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. *Science*. 2013. Vol. 342, № 6157. P. 447–453. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1237910>
 32. Tian Y., Zheng Y., Teng G., Li J., Wang H. Imbalanced mucosal microcirculation in the remission stage of ulcerative colitis using probe-based confocal laser endomicroscopy. *BMC Gastroenterology*. 2019. Vol. 19, № 1. P. 114. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12876-019-1037-6>
 33. Базер Бачі Б.Е. Морфологічні зміни в пародонті внаслідок ортодонтичного втручання при надмірній масі тіла (експериментальне дослідження). *Харківський стоматологічний журнал*. 2025. Т. 2, № 3(5). С. 316–329. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5607-2025-5-04>
 34. Гладких Ф.В. Імунний перехрест пародонтиту та ревматоїдного артрити: оральна мікробіота як тригер аутоімунізації. *Харківський стоматологічний журнал*. 2025. Т. 2, № 1(3). С. 57–77. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5607-2025-3-07>
 - Immunological Investigations*. 2014;43(7):638–52. DOI: <https://doi.org/10.3109/08820139.2014.90945621>
 21. Dhanda SK, Gupta S, Vir P, Raghava GP. Prediction of IL4 inducing peptides. *Clinical & Developmental Immunology*. 2013;2013:263952. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/263952>
 22. Lv Q, Xing Y, Liu Y, Chen Q, Xu J, Hu L, et al. Didymins switches M1-like toward M2-like macrophage to ameliorate ulcerative colitis via fatty acid oxidation. *Pharmacological Research*. 2021;169:105613. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105613>
 23. Liadova T, Hladkykh FV. Immunological mechanisms of the development of autoimmune gastritis as a precancerous disease of the stomach. *Karazin Journal of Immunology*. 2024;7(2):202–11. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5615-2024-14-09>
 24. Leclercq S, de Timary P, Delzenne NM, Stärkel P. The link between inflammation, bugs, the intestine and the brain in alcohol dependence. *Translational Psychiatry*. 2017;7(2):e1048. DOI: <https://doi.org/10.1038/tp.2017.15>
 25. Chen G, Shi F, Yin W, Guo Y, Liu A, Shuai J, et al. Gut microbiota dysbiosis: the potential mechanisms by which alcohol disrupts gut and brain functions. *Frontiers in Microbiology*. 2022;13:916765. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916765>
 26. Vasylyeva IM, Babenko OV, Nakonechna OA, Popova LD, Voitenko SA. Comparative analysis of two types of control in the formation of an experimental model of chronic ulcerative colitis. *Achievements of Clinical and Experimental Medicine*. 2021;4(4):56–9. (in Ukrainian). DOI: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2021.v.i4.12799>
 27. Leclercq S, De Saeger C, Delzenne N, de Timary P, Stärkel P. Role of inflammatory pathways, blood mononuclear cells, and gut-derived bacterial products in alcohol dependence. *Biological Psychiatry*. 2014;76(9):725–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2014.02.003>
 28. Leclercq S, Cani PD, Neyrinck AM, Stärkel P, Jamar F, Mikolajczak M, et al. Role of intestinal permeability and inflammation in the biological and behavioral control of alcohol-dependent subjects. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2012;26(6):911–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.04.001>
 29. Babenko O, Vasylyeva I, Nakonechna O, Popova L, Voitenko S, Pustova N. The viability of leukocytes and reactive oxygen species generation by them in rats with chronic colitis. *Wiadomosci Lekarskie*. 2022;75(9 Pt 2):2270–4. URL: <https://wiadomosci.lww.com/content/uploads/archive/2022/09/WLek2022092.pdf>
 30. Rocco A, Compare D, Angrisani D, Sanduzzi Zamparelli M, Nardone G. Alcoholic disease: liver and beyond. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(40):14652–9. DOI: <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i40.14652>
 31. Shan M, Gentile M, Yeiser JR, Walland AC, Bornstein VU, Chen K, et al. Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. *Science*. 2013;342(6157):447–53. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1237910>
 32. Tian Y, Zheng Y, Teng G, Li J, Wang H. Imbalanced mucosal microcirculation in the remission stage of ulcerative colitis using probe-based confocal laser endomicroscopy. *BMC Gastroenterology*. 2019;19(1):114. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12876-019-1037-6>
 33. Bazer Bachi BE. Morphological changes in the periodontium due to orthodontic intervention in overweight patients (experimental study). *Kharkiv Dental Journal*. 2025;2(3):316–29. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5607-2025-5-04>
 34. Hladkykh FV. Immune crosstalk between periodontitis and rheumatoid arthritis: oral microbiota as a trigger of autoimmunity. *Kharkiv Dental Journal*. 2025;2(1):57–77. DOI: <https://doi.org/10.26565/3083-5607-2025-3-07>

Обмеження дослідження

Автори рукопису свідомо засвідчують, що представлене дослідження має обмеження, зумовлені його дизайном і виконанням. В експериментальному дослідженні було використано 42 щури, які були рівномірно розподілені на три групи. Ця кількість відповідає біоетичним нормам, що дозволяє провести статистичний аналіз отриманих результатів на мінімальній вибірці. Вимірювання біохімічних показників проводилися за допомогою реагентів, які дозволені лише до експериментальних досліджень, що певною мірою накладає обмеження на отримані дані.

Limitation of the study

The authors of the manuscript acknowledge that the presented study has limitations due to its design and execution. The experimental study involved 42 rats, which were evenly divided into three groups. This number complies with bioethical standards, allowing for statistical analysis of the results on a minimum number of animals. Biochemical parameters were received using reagents approved only for experimental research, which to some extent imposes limitations on the data obtained.

Перспективи подальших досліджень

Перспективним для подальших наукових досліджень є визначення життєздатності лейкоцитів та генерації активних форм кисню у щурів з ДНБС-індукованим хронічним колітом.

Конфлікт інтересів

Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів щодо результатів цієї роботи.

Дотримання етичних норм

Експериментальні дослідження проводили на тваринах виварію Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України відповідно до загальних етичних принципів, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (Київ, 2001), положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986) та Директиви Ради Європи 86/609/ЄЕС (1986), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження». Проведення експериментального дослідження було схвалено Комісією з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол № 5 від 17 вересня 2019 р.).

Використання штучного інтелекту

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у процесі проведення дослідження та підготовки цього рукопису не використовували жодних інструментів або сервісів генеративного штучного інтелекту (ШІ) для виконання будь-яких завдань, перелічених у Таксономії делегування завдань генеративному штучному інтелекту (GAIDeT, 2025 р.). Усі етапи роботи – від концептуалізації до фінального редагування – виконані без залучення генеративного ШІ, виключно авторами.

Первинні дані та матеріали

Автори рукопису свідомо засвідчують, що у роботі використано результати власних експериментальних досліджень, які були систематизовані та проаналізовані авторами. Первинні дані включають узагальнені показники, лабораторні результати, експериментальні протоколи та отримані кількісні характеристики. Всі матеріали збережені в архіві дослідницької групи та можуть бути надані за обґрунтованим запитом до автора-кореспондента, з урахуванням етичних норм та правових обмежень.

Інформація про фінансування

Дослідження проводилося з ініціативи авторів і не фінансувалося жодним джерелом.

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

Васильєва Ірина Михайлівна – кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;

e-mail: im.vasylieva@knmu.edu.ua
моб.: +38(067) 928-96-66

Внесок автора: відтворення експериментальної моделі виразкового коліту, написання чернетки статті, аналіз отриманих даних та їх статистична

Prospects for further research

Prospects for further scientific research include determining the viability of leukocytes and the generation of active oxygen species in rats with DNBS-induced chronic colitis.

Conflict of interest

The authors of the manuscript declare that there are no actual or potential conflicts of interest regarding the results of this work.

Ethics statement

Experimental studies were conducted on animals from the vivarium of Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine in accordance with the general ethical principles adopted by the First National Congress of Ukraine on Bioethics (Kyiv, 2001), the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 1986) and Council Directive 86/609/EEC (1986), Law of Ukraine No. 3447-IV of 21.02.2006 «On the Protection of Animals from Cruel Treatment.» The experimental study was approved by the Ethics and Bioethics Committee of Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (protocol No. 5 of September 17, 2019).

Use of Generative Artificial Intelligence

The authors of the manuscript consciously certify that in the process of conducting the research and preparing this manuscript, they did not use any generative artificial intelligence (AI) tools or services to perform any tasks listed in the Taxonomy of Generative Artificial Intelligence Task Delegation (GAIDeT, 2025). All stages of the work – from conceptualization to final editing – were performed without the involvement of generative AI, exclusively by the authors.

Data availability statement

The authors of the manuscript consciously certify that the work uses the results of their own experimental research, which were systematized and analyzed by the authors. Primary data include generalized indicators, laboratory results, experimental protocols and obtained quantitative characteristics. All materials are stored in the archive of the research group and can be provided upon reasonable request to the corresponding author, taking into account ethical norms and legal restrictions

Funding information

The study was conducted at the initiative of the authors and was not funded by any source.

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Vasylyeva Irina Mykhailivna – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Biological Chemistry of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: im.vasylieva@knmu.edu.ua
tel.: +38(067) 928-96-66

Author's contribution: reproduction of an experimental model of ulcerative colitis, drafting the manuscript, statistical processing, analysis and interpretation of the

обробка, аналіз та інтерпретація даних, оформлення статті згідно з вимогами журналу.

obtained data, preparation of the article according to the journal demands.

Наконечна Оксана Анатоліївна – доктор медичних наук, професор, проректор з наукової роботи Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: oa.nakonechna@knmu.edu.ua
mob.: +38 (050) 632-63-87

Внесок автора: концепція дослідження, формулювання мети дослідження, аналіз та інтерпретація даних, редагування статті, остаточне затвердження статті.

Nakonechna Oksana Anatoliyivna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Vice-Rector for Scientific Work of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;
e-mail: oa.nakonechna@knmu.edu.ua
tel.: +38 (050) 632-63-87

Author's contribution: research concept, formulation of research objectives, data analysis and interpretation, editing the article, final approval of the article.

Гаргін Віталій Віталійович – доктор медичних наук, професор, професор кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: vv.harhin@knmu.edu.ua
mob.: +38 (099) 049-85-57

Внесок автора: збір даних, статистична обробка даних, редагування статті, остаточне затвердження статті.

Gargin Vitaliy Vitaliyovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Pathological of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: vv.harhin@knmu.edu.ua
tel.: +38 (099) 049-85-57

Author's contribution: data collection, statistical data processing, article editing, final approval of the article.

Ярмиш Наталія Василівна – кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри біологічної хімії Харківського національного медичного університету Міністерства охорони здоров'я України; просп. Науки, буд. 4, м. Харків, Україна, 61022;
e-mail: nv.yarmysh@knmu.edu.ua
mob.: +38 (050) 575-57-09

Внесок автора: підбір літературних джерел за темою роботи, переклад статті англійською мовою, участь у проведенні експериментальних досліджень.

Yarmysh Natalia Vasilivna – Candidate of Biological Sciences, senior lecturer of the Department of Biological Chemistry of the Kharkiv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine; 4 Nauky Ave., Kharkiv, Ukraine, 61022;

e-mail: nv.yarmysh@knmu.edu.ua
tel.: +38 (050) 575-57-09

Author's contribution: selection of literary sources according to the topic of the work, participation in conducting experimental research, translation of the article into English.

Рукопис надійшов
Manuscript was received
29.12.2025

Отримано після рецензування
Received after review
05.02.2026

Прийнято до друку
Accepted for printing
15.04.2026

Опубліковано
Published
27.04.2026