НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ТЕРАПИИ И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ – ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

На правах рукописи

Азгалдян Александра Викторовна

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ОСОБЕННОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ КИШЕЧНИКА

3.1.18 – внутренние болезни

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Кручинина Маргарита Витальевна
Научный консультант:
кандидат медицинских наук,
доцент Светлова Ирина Олеговна

Новосибирск – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ……... 5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ……... 15
1.1 Нерешенные проблемы дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника…….. 15
1.2 Клиническая значимость дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника……. 17
1.2.1 Медикаментозное лечение……..... 18
1.2.2 Хирургическое лечение…….. 19
1.2.3 Заживление слизистых оболочек……... 20
1.2.4 Биомаркеры…….. 21
1.3 Методы оценки активности воспалительных заболеваний кишечника …… 29
1.4 Подходы к мониторингу воспалительных заболеваний кишечника …… 29
1.4.1 Роль биомаркеров в мониторинге воспалительных заболеваний кишечника……..... 31
1.4.2 Мониторинг степени активности заболевания……. 32
1.4.3 Прогнозирование течения заболевания и ответной реакции на терапию……. 34
1.4.4 Прогнозирование рецидива заболевания…….. 36
1.5 Анемии и состояние клеток красной крови при воспалительных заболеваний кишечника…….. 39
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ…… 44
2.1 Дизайн исследования……..... 44
2.2 Общая характеристика обследованных пациентов……..... 45
2.2.1 Диагностические критерии заболеваний кишечника, использованные для выбора групп пациентов…….. 47
2.3 Методы обследования…….. 49

2.3.1 Исследование показателей красной крови…… 49
2.3.2 Исследование биохимических показателей…….. 53
2.4 Статистическая обработка……..... 54
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ……... 57
3.1 Клиническая характеристика обследованных пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника……... 57
3.1.1 Клиническая характеристика пациентов с язвенным колитом……..... 57
3.1.2 Клиническая характеристика пациентов с болезнью Крона…….. 61
3.1.3 Клиническая характеристика пациентов с неклассифицируемым колитом……..... 67
3.2. Исследование показателей красной крови, обмена железа у пациентов с разными нозологическими формами воспалительных заболеваний кишечника……. 74
3.2.1 Исследование биохимических показателей у пациентов с разными нозологическими формами воспалительных заболеваний кишечника..... 78
3.2.2 Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными нозологическими формами воспалительных заболеваний кишечника…… 83
3.2.3 Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными нозологическими формами воспалительных заболеваний кишечника с учетом проводимой терапии…. 89
3.2.4 Корреляции электрических, вязкоупругих параметров эритроцитов с клинико-биохимическими показателями……..... 97
3.3 Определение активности воспалительных заболеваний кишечника на основе совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина …… 108
3.3.1 Исследование электрических и вязкоупругих параметров

эритроцитов у пациентов с разными стадиями воспалительных заболеваний кишечника……... 108
3.3.2 Описание способа диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника на базе комплексного использования электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина…… 113
3.3.3 Клинические примеры осуществления способа определения активности воспалительных заболеваний кишечника …… 119
3.4 Параметры эритроцитов как прогностические маркеры течения воспалительных заболеваний кишечника……. 126
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ……... 146
ЗАКЛЮЧЕНИЕ…… 160
ВЫВОДЫ……. 161
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ……. 163
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ……... 164
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…… 167
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА……... 207
ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное) Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле…… 211
ПРИЛОЖЕНИЕ Б (справочное) Справка из ФИПС о приоритете заявки на патент…… 222

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Хронические воспалительные заболевания кишечника (ХВЗК) остаются одной из главных проблем современной медицины и имеют большую социальную значимость. В большинстве стран отмечается рост заболеваемости язвенным колитом и болезнью Крона с нивелированием географического градиента, поражаются, преимущественно, молодые люди, часто патология протекает тяжело, существенно снижает качество жизни, приводит к осложнениям, снижению трудоспособности и большим затратам на лечение. В ближайшие десятилетия ожидается значительное увеличение заболеваемости воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК) в странах Восточной Европы, Азии и в России [4; 234; 241].

Несмотря на то, что этиология ВЗК не известна, понятно, что в основе их патогенеза лежат генетически детерминированные и приобретенные особенности регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы на различные эндогенные и/или экзогенные стимулы [242; 282]. Имеющиеся клинические и иммуно-генетические различия между основными нозологическими формами ВЗК (язвенным колитом и болезнью Крона) требуют ранней точной дифференциальной диагностики для выбора оптимального лечения. В то же время на ранних этапах развития заболевания клинические проявления ВЗК нередко весьма схожи [89; 280]. Более чем в 25 % случаев клиницистам приходится прибегать к диагнозу «неклассифицируемый колит», который предполагает дальнейшую верификацию [134].

Выбор терапии при ВЗК определяется, главным образом, активностью воспалительного процесса [61]. Для оценки активности воспаления при ВЗК используются клиническая оценка, морфологическая верификация, в ряде случаев сопряженная с риском ятрогенного обострения, а также весьма ограниченный перечень лабораторных методов: скорость оседания эритроцитов (СОЭ),

С-реактивный белок (СРБ), фекальный кальпротектин. [10; 18; 48]. Полной корреляции между данными различных способов оценки активности ВЗК нет, что требует дополнительных затрат, нагрузочно для пациента и чревато ошибками в оценке клинической ситуации и определении тактики лечения [190].

Поэтому поиск новых неинвазивных или малоинвазивных методов дифференциальной диагностики между разными нозологическими вариантами ВЗК, способов оценки активности воспалительного процесса, а также предикторов обострения ВЗК представляется актуальным. Изменение свойств мембран эритроцитов при воспалении кишечной слизистой и, сопутствующей ВЗК хронической кровопотере, может оказаться одним из таких новых диагностических тестов.

Известно, что одним из наиболее частых внекишечных проявлений ВЗК является анемия, которая вносит существенный вклад в клиническую картину ВЗК, влияет на качество жизни пациентов [98; 241], потенциально ограничивая их трудоспособность [78]. В доступной литературе мы не обнаружили сведений об особенностях структурно-функциональных свойств эритроцитов при язвенном колите и болезни Крона с позиции дифференциальной диагностики этих заболеваний, оценки их активности и прогноза обострения.

Несмотря на проведенные исследования, касающиеся особенностей различных нозологических форм ВЗК, проблема поиска малоинвазивных чувствительных маркеров, позволяющих различить язвенный колит и болезнь Крона, оценить активность заболевания, спрогнозировать обострение продолжает оставаться актуальной [266]. Структурно-функциональные параметры эритроцитов, с этой точки зрения, представляются весьма перспективными, поскольку известно о высокой распространенности анемий различного генеза (до 74 %) у пациентов с ВЗК [251]. Использование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов в качестве дифференциально-диагностических показателей при ВЗК в предшествующих исследованиях не отмечено.

Цель работы

Изучить клинико-лабораторные особенности ВЗК в сопоставлении со структурно-функциональными параметрами эритроцитов у больных язвенным колитом и болезнью Крона с целью поиска новых дифференциально-диагностических критериев между нозологическими формами ВЗК, оценки активности и прогноза заболевания.

Задачи исследования

1. Изучить методом диэлектрофореза и сравнить электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов у пациентов с язвенным колитом, болезнью Крона и пациентов с неклассифицируемыми колитами и выявить наиболее значимые комплексы показателей для дифференциальной диагностики между формами ВЗК.

2. Выявить возможные ассоциации между структурно-функциональными параметрами эритроцитов и активностью ВЗК, определенной стандартными методами, и определить перечень и дифференцирующие значения параметров эритроцитов для различения стадий ВЗК.

3. Исследовать параметры эритроцитов в динамике течения ВЗК для выявления среди них возможных прогностических факторов.

Научная новизна работы

Впервые в России установлено, что электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, изученные с помощью метода диэлектрофореза у пациентов с ВЗК, достоверно отличаются от таковых у лиц контрольной группы – повышенным уровнем деформированных, сфероцитарных форм, меньшим диаметром клетки, склонностью к деструкции, агрегации, сниженной способности к деформации на фоне повышенных обобщенных показателей вязкости и жесткости, более высокими уровнями электропроводности мембран, сниженными

значениями поляризуемости на разных частотах электрического поля ($p < 0,0001$–0,05).

Впервые в стране выявлено, что электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов имеют особенности, ассоциированные с нозологической формой ВЗК. Клетки красной крови пациентов с болезнью Крона в стадии обострения, в отличие от больных с активным язвенным колитом (ЯК), имели достоверно более низкие значения амплитуды деформации, емкости, дипольного момента, скорости поступательного движения клеток к электродам, доли дискоцитов, поляризуемости на большей части частот электрического поля ($p < 0,0001$–0,01). Кроме того, обобщенные показатели жесткости, вязкости, электропроводности, индексы агрегации, деструкции оказались существенно выше при болезни Крона (БК) по сравнению с ЯК ($p < 0,001$–0,01) в любой стадии. У пациентов с БК оказалось большее число деформированных клеток с измененным характером поверхности, а равновесная частота резко сдвинута в высокочастотный диапазон. Эритроциты пациентов с активным НКК по уровню ряда параметров (относительная поляризуемость, электропроводность, емкость мембран, положение равновесной частоты) занимали промежуточное положение между таковыми у больных с ЯК и БК. Значения целого перечня показателей эритроцитов оказались близкими к таковым при активной болезни Крона, отличаясь от ЯК – это средний диаметр клеток, доля дискоцитов, сфероцитарных, деформированных форм, характер поверхности клеток, амплитуда деформации клеток на высоких частотах, обобщенные показатели вязкости, жесткости, индекс агрегации, величина дипольного момента и скорость движения к электродам ($p = 0,00001$–0,038).

Впервые в России предложен способ диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника на основе совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровней фекального кальпротектина, позволяющий с чувствительностью 91,9 %, специфичностью 93,1 %, диагностической точностью 92,3 % определить стадию заболевания при ВЗК.

Впервые в стране получены данные о том, что наблюдаемые различия в свойствах эритроцитов связаны с разным патогенезом анемии (преимущественно железодефицитная у лиц с ЯК и анемия воспалительных заболеваний при БК), отличиями в уровнях маркеров воспаления при ЯК и БК, и разной степенью их взаимосвязи с параметрами эритроцитов.

Впервые в России выявлены более тесные и достоверные корреляции электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и маркеров воспаления (СРБ, СОЭ, количество лейкоцитов, фибриноген, ферритин) у пациентов с болезнью Крона по сравнению с группой с язвенным колитом.

Впервые в России созданы диагностические панели, включающие электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, позволяющие с высокой диагностической точностью различать пациентов с разными стадиями ВЗК, а также отличать пациентов с ВЗК в стадии ремиссии и обострения от лиц контрольной группы.

Впервые в России определены параметры эритроцитов (доля деформированных клеток, величина дипольного момента, электропроводность мембран, скорость поступательного движения эритроцитов к электродам, характер поверхности клеток, степень изменения амплитуды деформации на частоте (5×10^5) Гц, емкость мембран эритроцитов), являющиеся предикторами обострения ВЗК ($p = 0{,}0004–0{,}029$).

Теоретическая и практическая значимость работы

Совокупное использование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с учетом уровней, ассоциированных с разными нозологическими формами ВЗК, в сложных случаях может помочь в дифференциальной диагностике между язвенным колитом и болезнью Крона и позволит ускорить верификацию диагноза у пациентов с неклассифицируемыми колитами.

Результаты исследования электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов в сочетании с клиническими, биохимическими, показателями

красной крови, обмена железа, маркерами воспаления позволили прийти к выводу, что перечень параметров эритроцитов (средний диаметр клетки, поляризуемость на частоте 10^6 Гц, скорость поступательного движения к электродам, амплитуда деформации на частоте 10^6 Гц, обобщенные показатели вязкости, жесткости, электропроводность, положение равновесной частоты) может быть использован для дифференцирования пациентов с ВЗК в стадии обострения от стадии ремиссии. Предложенный способ определения активности ВЗК, заключающийся в комплексном применении вязкоупругих параметров эритроцитов и фекального кальпротектина с определенными дифференцирующими значениями, даст возможность оптимизировать диагностический поиск.

Использование наиболее значимых параметров эритроцитов в качестве предикторов обострения/ремиссии позволит начать лечение до развития ярких клинических, эндоскопических проявлений и своевременно корректировать проводимую терапию.

Выявленные реологические нарушения (сниженная деформабельность эритроцитов, повышенный гемолиз, образование агрегатов) определяют возможность применения дополнительных подходов в терапии ВЗК.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование являлось по дизайну исследованием «серия случаев» с фрагментом проспективного наблюдения. В исследование включены 110 пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника, проходившие обследование и лечение на базе стационара ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД–Медицина» г. Новосибирск», кабинета воспалительных заболеваний кишечника в составе Городского бюджетного учреждения здравоохранения НСО «Городской инфекционной клинической больницы № 1», медицинского центра «Гастроцентр» в период с 2018 по 2020 годы. Все пациенты проходили общеклиническое обследование, клинико-инструментальное обследование; осуществлялся забор

крови для лабораторных и биохимических анализов, включая исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов. В ходе обследования у 50 пациентов был верифицирован язвенный колит, у 41 – болезнь Крона, 19 пациентов наблюдались с диагнозом «неклассифицируемый колит». У 36 больных обследование проведено в динамике (от 6 до 12 месяцев от момента первого исследования). Группу контроля составили 53 человека, сопоставимые по возрасту и полу с основной группой, без манифестирующей патологии внутренних органов, проходившие профилактическое обследование на вышеперечисленных клинических базах. Всем лицам контрольной группы проводили сбор анамнеза, общеклиническое, клинико-инструментальное обследование, осуществляли забор крови для лабораторных и биохимических анализов.

Исследование выполнено с одобрения Комитета Биомедицинской Этики Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (17.12.2018, протокол № 120). Все обследованные лица подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Проведенный на заключительном этапе статистический анализ данных и использование методов машинного обучения, которые используют для создания диагностических моделей деревья решений, позволили получить достоверные данные и сформулировать обоснованные выводы.

Положения, выносимые на защиту

1. У пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника выявлены особенности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, ассоциированные с нозологической формой ВЗК. Отличия в параметрах

эритроцитов у пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом определяются различным преобладающим генезом анемии при этих заболеваниях.

2. Выявлены дифференцирующие значения восьми наиболее значимых электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов для различения стадий ВЗК (обострение/ремиссия). Зависимость показателей эритроцитов от активности заболевания определяется тесными их корреляциями с маркерами воспаления.

3. Уровни параметров эритроцитов: доля деформированных клеток; величина дипольного момента; электропроводность мембран; скорость поступательного движения эритроцитов к электродам; характер поверхности клеток; степень изменения амплитуды деформации на частоте (5×10^5) Гц; емкость мембран эритроцитов – в совокупности ассоциированы с характером течения ВЗК в последующие 6–12 месяцев и претендуют на роль прогностических маркеров.

Степень достоверности

Мощность выборки рассчитывалась при помощи специальной формулы:

$$N_{min} = 15.4*(p*(1-p))/W^{2.} \quad (1)$$

где p – ожидаемое значение вероятности случайного события;

W – ширина доверительного интервала для значения вероятности.

По этой формуле минимальный объем выборки пациентов с ВЗК, которым при обследовании выполнено исследование электрических, вязкоупругих параметров эритроцитов составил 106 человек. Достоверность результатов диссертации основана на использовании современных клинических, функционально-диагностических и лабораторных методик. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics (версия 26.0), методов машинного обучения (Random Forest) с применением программного обеспечения MATLAB (R2019a, MathWorks) и языка

программирования R с использованием стандартных библиотек обучающих классификаций и наборов инструментов статистики.

Апробация работы

Результаты работы представлены и обсуждены автором: на 25-й юбилейной объединенной Российской Гастроэнтерологической неделе (Москва, 2019 г.), доклад получил первую премию в конкурсе стендовых докладов; на 26-й, 27-й объединенных Российских Гастроэнтерологических неделях (Москва, 2020, 2021 гг.); на 21-м Международном медицинском Славяно-Балтийском научном форуме «Санкт-Петербург – Гастро-2019» и 21-м съезде Научного общества гастроэнтерологов России (НОГР) (Санкт-Петербург, 2019 г.); на 28-й Международной конференции по хелатированию, 10-й Международной конференции по современным достижениям в здравоохранении и медицинской науке и 7-й Международной конференция по онкологии и исследованиям в онкологии (Пафос, Кипр, 2019 г.); на объединенных европейских виртуальных Гастроэнтерологических неделях (2020, 2021 гг.).

Апробация диссертационной работы проведена на межлабораторном семинаре «НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН» 29 июня 2021 г.

Публикации

Результаты исследования с достаточной полнотой отражены в опубликованных работах автора. По материалам диссертации опубликовано 6 научных работы, в том числе 1 заявка на патент на изобретение, 3 статьи в центральных российских журналах, рекомендованных Перечнем ВАК Российской Федерации, из них 2 статьи в журналах, входящих в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Web of Science и/или Scopus), 1 монография.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 222 страницах машинописного текста, иллюстрирована 16 таблицами и 17 рисунками.

Состоит из введения, обзора литературы, главы «Материалы и методы исследования», главы «Результаты собственных исследований», обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка используемой литературы. Список цитируемой литературы включает 282 источника, в том числе 18 российских и 264 зарубежных.

Личный вклад автора

Автором лично произведен отбор пациентов в основную и контрольную группы, выполнена подготовка образцов для исследования электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, создана база данных на основании протоколов и полученных результатов, проведены статистическая обработка материала, анализ и научная интерпретация полученных результатов. В соавторстве с Кручининой М.В., Светловой И.О., Осипенко М.Ф. с большей долей вклада на каждом этапе публикации были написаны и опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных Перечнем ВАК, в которых отражены полученные результаты.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Нерешенные проблемы дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника

Неспецифические воспалительные заболевания кишечника – это группа заболеваний неизвестной этиологии, характеризующихся иммуно-воспалительным повреждением стенки тонкой и/или толстой кишки [120; 228].

К ВЗК обычно относят две основные нозологические формы – язвенный колит и болезнь Крона [120]. Язвенный колит характеризуется хроническим диффузным воспалением слизистой оболочки толстой кишки, начиная от прямой кишки с распространением в проксимальном направлении [282]. Формально излечение пациента от ЯК возможно после колпрокэктомии, которая выполняется, в большинстве случаев, даже при ограниченном поражении кишечника с последующими восстановительно-реконструктивными операциями с формированием тонкокишечного резервуара. Выключение пораженного участка кишки из пассажа при ЯК приводит к усилению воспаления и утяжеляет клиническое течение [171].

При болезни Крона в воспалительный процесс вовлекаются все отделы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и все слои кишечной стенки с возможным распространением за пределы кишки и развитием осложнений в виде свищей, стриктур, абсцессов [282]. Рецидивирующее прогрессирующее течение болезни Крона с вовлечением новых сегментов ЖКТ предполагает экономную хирургическую резекцию при развитии осложнений или временное выключение пораженного участка кишки из пассажа, приводящее к стиханию воспаления. Формирование тонкокишечного резервуара при БК закономерно приводит к его воспалению и поэтому не рекомендуется [144]. Полное излечение от болезни Крона в настоящее время консервативными и хирургическими методами невозможно [158].

Этиологическая диагностика ВЗК в настоящее время невозможна, клинический диагноз является итогом совокупной оценки анамнеза, в том числе, родословной, особенностей детского периода, симптомов и данных лабораторных и инструментальных методов исследования, зачастую плохо стандартизованных и зависящих от субъективного взгляда диагноста [10; 18; 241].

Проблемы дифференциальной диагностики между ЯК и БК возникают, главным образом, при поверхностном колите Крона [90]. По данным литературы, даже при применении всего комплекса диагностических технологий у 10–15 % пациентов не удается поставить точный нозологический диагноз ВЗК [280]. В этих случаях предложено использовать несогласованные окончательно в отчественных и зарубежных источниках термины «неклассифицируемый», «недифференцируемый», «неопределенный» колит. В зарубежной литературе для обозначения этого варианта ВЗК используются термины «indeterminate colitis» [24; 134], «inflammatory bowel disease – type unspecified (IBDU)», «IBD type unclassified (IBDU)» [90] «unclassified», «uncertain» [173]. По данной форме ВЗК отсутствуют консенсусы и клинические рекомендации по критериям, алгоритмам диагностики и лечению. В процессе наблюдения у части пациентов удается установить точный нозологический диагноз, однако, у некоторых больных диагноз неклассифицируемого колита сохраняется в течение длительного времени [90; 280]. Кроме того, существует группа больных с симптоматикой ЯК, у которых в динамике развиваются фиброзные стриктуры, свищи, инфильтраты или поражаются верхние отделы ЖКТ, что приводит к смене диагноза на «болезнь Крона» [173].

Проблемы в определении нозологической принадлежности ВЗК приводят к ошибкам в выборе тактики терапевтического и хирургического лечения и неудовлетворительным его результатам [237].

Таким образом, поиск новых малоинвазивных недорогих и доступных методов дифференциальной диагностики нозологических форм ВЗК является актуальным.

1.2. Клиническая значимость дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний кишечника

За последние пятнадцать лет развитие биологической терапии и широкое применение иммуномодуляторов радикально изменили стратегию лечения ВЗК. Главной целью лечения ВЗК стало полное заживление слизистой оболочки и трансмуральное заживление при болезни Крона, определяющие долгосрочный прогноз заболевания с точки зрения прогрессирования осложнений, потребности в хирургическом лечении. В связи с этим усилилась потребность в определении неинвазивных показателей, достоверно и точно отражающих динамику воспаления слизистой оболочки в процессе лечения, что позволяет корректировать текущую терапию и определять оптимальные сроки эндоскопических и морфологических контролей. В этом контексте вопрос дифференциальной диагностики вновь привлек к себе внимание, поскольку как медикаментозное, так и хирургическое лечение предполагает все больше и больше стратегий, специфичных для конкретного заболевания [145; 154; 180; 231; 259; 260].

1.2.1 Медикаментозное лечение

Поскольку причины ВЗК сложны и могут быть определены лишь отчасти, современные медицинские подходы к лечению основаны на применении лекарств, оказывающих прямое (например, кортикостероиды и иммуномодуляторы) или косвенное (например, антибиотики) воздействие на воспалительный каскад любой из этих болезней [156; 230; 272]. Большинство препаратов одобрено для лечения как ЯК, так и БК. Однако такие препараты, как Цертолизумаба пэгол и Натализумаб были одобрены только для БК (FDA, США), в то время как Голимумаб и ингибиторы кальциневрина (Циклоспорин и Такролимус) и ингибитор янус-киназы-3 Тофацитиниб – только для ЯК. Кроме

того, для нескольких методов лечения были продемонстрированы специфические для заболевания преимущества и частота ответных реакций. Например, аминосалицилаты рекомендуются в качестве варианта первой линии лечения и поддержания ремиссии при ЯК, но, помимо их возможных химиопрофилактических свойств, играют гораздо менее значительную роль в лечении БК [118; 155; 231; 259]. Напротив, Метотрексат показал более высокую скорость ответной реакции при БК, чем при ЯК [20; 170; 178; 261; 276]. Фактически, результаты двух отдельных третьих фаз рандомизированных исследований, проводимых по двойному слепому методу с плацебо-контролем нового моноклонального антитела Ведолизумаба, направленного на интегрин альфа-4/бета-7, показали различную эффективность у пациентов с ЯК и БК [67].

В последние годы предпринимаются все более активные усилия по определению специфических патогенетических механизмов в каскаде воспалительных процессов при обоих заболеваниях с целью выявления новых конкретных мишеней терапии [30; 41; 144; 150; 175; 181; 223]. Помимо более действенного контроля над заболеванием, применение таких специфических и целенаправленных методов лечения должно снизить уровень побочных эффектов иммуномодуляции (т. е. злокачественных опухолей, инфекций и аллергических реакций, угрожающих жизни), поддерживая при этом политику экономии средств [33; 49; 108; 166; 193; 249; 272]. Поэтому важность разграничения между БК и ЯК будет заметно возрастать по мере того, как в клинической практике будут появляться новые таргетные методы терапии.

Наконец, точная диагностика необходима для включения пациентов в клинические исследования новых лекарственных средств, которые часто являются единственно возможной альтернативой хирургическому вмешательству при рефрактерном колите.

1.2.2 Хирургическое лечение

Дифференциальная диагностика ЯК и БК особенно актуальна при хирургическом лечении, особенно в случае проктоколэктомии. Восстановительная проктоколэктомия с подвздошно-резервуаро-анальной реконструкцией (ПРАР) является процедурой выбора при фульминантной или хронической, рефрактерной к лечению форме ЯК и ассоциированной с ЯК неоплазии толстой кишки [163; 231]. Подавляющее большинство пациентов с ЯК после ПРАР чувствуют себя относительно хорошо [23; 242], а у неоперированных пациентов с длительным рецидивирующим течением значительно снижено качество жизни [92; 123; 127; 128; 161; 252; 264]. В предыдущих исследованиях сообщалось о сопоставимых [23; 77], а не о худших [47; 133; 190; 279] долгосрочных результатах ПРАР при неклассифицируемом колите. Напротив, почти у 90 % пациентов с БК, перенесших ПРАР, развиваются осложнения, включая перианальный абсцессы / свищи, воспаление в области илео-анального резервуара или анальные стриктуры, и примерно для 50 % из них требуется повторная операция или создание стомы [23; 34; 69; 162; 242; 253; 264]. Послеоперационная переклассификация ЯК в БК не является редкостью, встречаясь у 3,5 %–12 % проспективных и ретроспективных категорий пациентов, перенесших проктоколэктомию, даже в специализированных медицинских центрах, занимающихся лечением ВЗК [23; 70; 107; 111; 176; 222; 241; 279].

Точная нозологическая диагностика ВЗК имеет решающее значение для лечения у этих больных несвищевых перианальных заболеваний, таких как геморрой, акрохордоны, анальные трещины и язвы. Долгосрочные результаты различных стратегий лечения при несвищевых перианальных поражениях, особенно у пациентов с ЯК и неклассифицированными воспалительными заболеваниями кишечника (НВЗК), отсутствуют. В исследовании 1993 г. по определению исхода операции по поводу симптоматического геморроя и анальных трещин у пациентов с верифицированной БК сообщалось о

значительной частоте осложнений (2/17 и 3/22 соответственно) [278]. Другое исследование Jeffery P. J. et al. [141] показало, что как хирургический, так и консервативный подходы к лечению геморроя ассоциированы с низкой частотой осложнений при ЯК, тогда как у пациентов с БК частота осложнений высока. Когда у пациентов с БК возникают перианальные поражения без образования свищей, рекомендуется применять консервативный подход: медикаментозная терапия или малоинвазивные хирургические вмешательства [32; 65; 169; 187].

1.2.3 Заживление слизистых оболочек

Заживление слизистых оболочек, а не только контроль симптомов, в настоящее время является основной целью лечения ВЗК. Эндоскопическая ремиссия признана первичной конечной точкой в клинических исследованиях и важным прогностическим фактором [28; 30; 64; 102; 180; 219; 266; 267].

Для пациентов с ЯК заживление слизистой оболочки представляет собой главенствующий клинический результат терапии, а отсутствие или медленная динамика заживления является поводом для принятия решения о повышении дозы, смене или отмене препарата. Напротив, для оценки результатов лечения БК используется совокупность признаков: заживление слизистой оболочки должно сочетаться с отсутствием трансмурального воспаления и внепросветных осложнений [30; 64; 180; 221]. Кроме того, существуют различия между БК и ЯК по эффективности различных препаратов в отношении заживления слизистой оболочки [81; 177; 180; 222]. Исходя из всех вышеизложенных аспектов, точная дифференциальная диагностика при ВЗК-колите, способная сократить число неклассифицируемых заболеваний, приобретает все большее значение.

ВЗК – колит может иметь целый ряд неспецифических признаков, превращающих дифференциальную диагностику между ЯК, БК и НВЗК в одну из самых больших проблем в гастроэнтерологии. Как указывалось выше, единого золотого стандарта для диагностики и различения форм ВЗК не существует.

Диагноз основывается на интегральной совокупности результатов мультидисциплинарного исследования, включающего клиническую оценку и комбинацию эндоскопических, гистологических, лучевых и / или лабораторных методов (рисунок 1) [90].

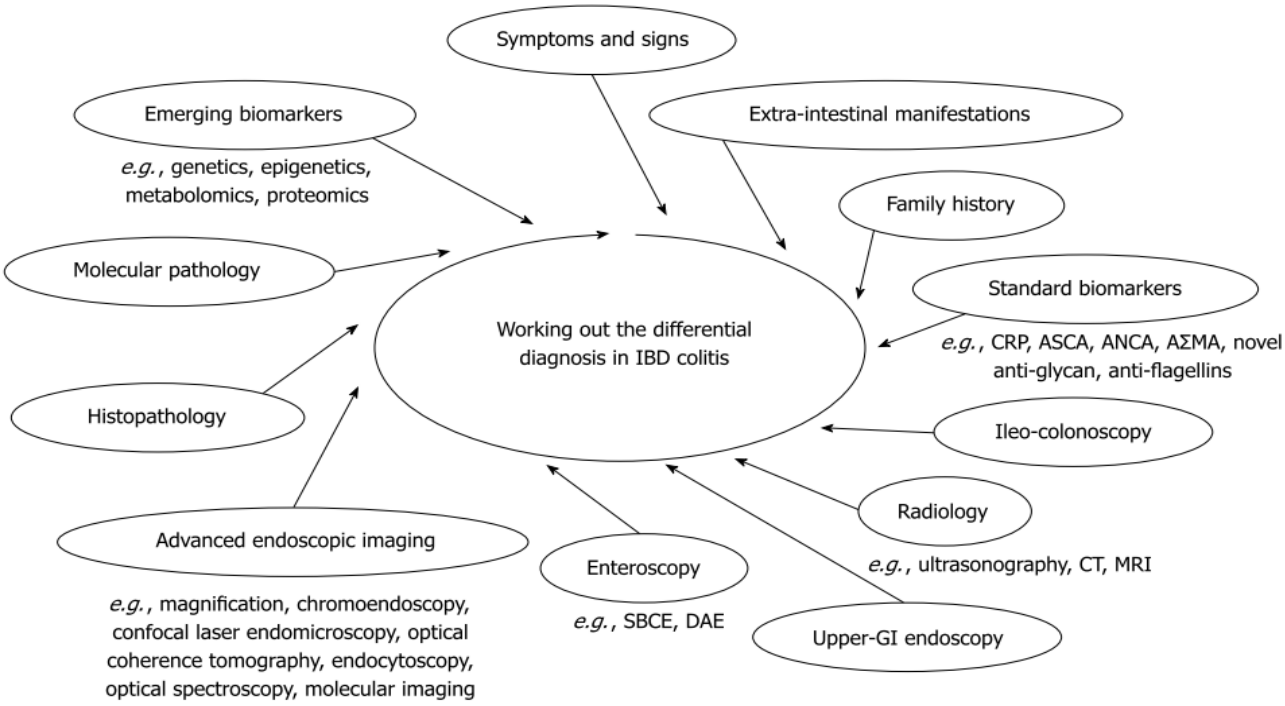


Рисунок 1 – Подходы к дифференциальной диагностике при воспалительных заболеваниях кишечника – колите [90]

1.2.4 Биомаркеры

Биомаркер определяется как «характеристика, которая объективно измеряется и оценивается как показатель нормальных биологических процессов, патогенных процессов или фармакологической реакции на терапевтическое вмешательство» [52]. Биомаркеры являются объективными и поддающимися количественной оценке характеристиками биологических процессов, хотя их уровни не обязательно коррелируют с симптомами. Маркеры клинически

значимых конечных точек должны быть надежными, действительными и реагировать на эффективное лечение.

Основные роли биомаркеров при ВЗК включают в себя поддержку в верификации диагноза, прогнозировании дальнейшего развития БК и ЯК у пациентов с НВЗК, определении активности заболевания, стратификации риска и прогнозировании ответа на терапию [140; 153; 266].

С-реактивный белок (СРБ) является сывороточным маркером острой фазы (период полужизни около 19 ч), вырабатываемым печенью в ответ на различные воспалительные состояния [140]. При активной стадии ВЗК уровни могут варьироваться в пределах от 5 до 200 мг/л в зависимости от тяжести заболевания, его распространенности и нескольких переменных, влияющих на способность индивидуума вырабатывать СРБ, таких как нутритивный статус, индекс массы тела, функция печени и генные полиморфизмы [140; 217]. СРБ используется для того, чтобы отличить органические расстройства от функциональных, активную стадию ВЗК – от неактивной, определить ответную реакцию на терапию, но плохо способен дифференцировать БК от ЯК [73; 178; 212]. На самом деле, повышение уровня СРБ гораздо более распространено (примерно 80 % против 50 %) и чувствительно при активной стадии БК по сравнению с ЯК, вероятно, из-за более глубокого воспаления кишечника и более высокого уровня интерлейкина-6 сыворотки [76; 105; 153; 271]. Несмотря на эту относительно низкую чувствительность при ЯК, предыдущие исследования показали, что уровень СРБ соответствует как распространенности заболевания, так и его степени тяжести. Большинство пациентов с ЯК на фоне повышенного СРБ имеют умеренное или тяжелое обострение болезни, выходящее за пределы области левого изгиба ободочной кишки [63; 76; 224]. Rodgers A. D. et al., 2007 [224] проспективно оценили корреляцию между уровнем СРБ и клинической / эндоскопической активностью у пациентов с ВЗК. Уровень СРБ был повышен у 14 %, 42 %, 64 % и 83 % пациентов с ЯК и – у 54 %, 70 %, 75 % и 100 % пациентов с БК с бессимптомным, легким, умеренным и тяжелым течением

заболевания, соответственно. Линейная корреляция log (СРБ) с клинической оценкой была обнаружена для всех степеней тяжести ЯК, за исключением проктита, тем самым подтверждая, что СРБ может коррелировать с клинической активностью и протяженностью поражения при ЯК [224].

Фекальные биомаркеры представляют собой белки, продукты лейкоцитов и лейкоциты, проникающие из проницаемой слизистой оболочки, отражая тем самым острую клеточную инфильтрацию слизистой [140]. Лейкоциты, меченные индием-111, кальпротектин, лактоферрин, эластаза полиморфно-нуклеарных гранулоцитов, неоптерин и белки S100A12 используются при ВЗК, чтобы исключить функциональные нарушения, оценить наличие, степень распространенности и активность воспаления слизистой оболочки кишечника, контролировать реакцию на терапию и определять сроки эндоскопического контроля [113; 140; 152; 179; 188; 269]. Предыдущие исследования показали, что и кальпротектин, и лактоферрин лучше, чем СРБ, предсказывают активное заболевание при эндоскопии, демонстрируя чувствительность от 70 % до 100 % и специфичность от 44 % до 100 %, в зависимости от значения cut-off [113; 153; 179]. Чувствительность фекальных биомаркеров выше при заболевании толстой кишки по сравнению с поражением подвздошной кишки [74; 112] и больше зависит от эндоскопической активности, чем от степени тяжести заболевания [43]. Последние данные свидетельствуют о том, что фекальный кальпротектин более тесно коррелирует с эндоскопической и симптоматической оценкой для ЯК, чем для БК, даже при исключении пациентов с только подвздошнокишечной БК [113; 179]. Однако ни один из доступных фекальных биомаркеров не может считаться полезным для дифференциальной диагностики у пациентов с ВЗК колитом.

Различные **иммунологические биомаркеры** использовались индивидуально и в качестве «панелей» тестов в попытках улучшить диагностику ВЗК, идентифицировать однородные фенотипы и отличить БК от ЯК [153]. Современные серологические тесты, в основном, включают антитела, распознающие аутоантигены или перекрестно реагирующие с некоторыми

бактериальными и грибковыми антигенами. Существование этих антител у больных ВЗК часто предшествует дебюту болезни [40; 236], отражая генетическую предрасположенность к аномальному иммунному ответу на определенную микробиоту кишечника, а возможно и другие патогенетические механизмы [91; 93; 110; 122; 183].

Перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела (pANCA) и антитела к дрожжам Saccharomyces cerevisiae (ASCA) были первыми доступными маркерами, использованными для диагностики ВЗК. Примечательно, что эффективность традиционных тестов на антитела к Saccharomyces cerevisiae (ASCA) IgG/IgA и более новых тестов gASCA IgG/IgA (антитела к ковалентно иммобилизованному маннану) [36] сопоставима для диагностики БК [68; 183]. Поэтому в настоящей главе термин «ASCA» будет относиться к обычному тесту, а также к тесту gASCA. Повышенные титры ASCA идентифицируют пациентов с БК с высокой специфичностью (85 %–100 %) и умеренной чувствительностью (около 39 %–76 %), характеризуя фенотипы заболевания с поражением подвздошной кишки (L1, L3), с образованием стриктур или проникающих осложнений, с молодым возрастом дебюта, а также с множественными операциями на кишечнике [54; 82; 86]. Yапротив, перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела (pANCA) чаще встречаются у пациентов с ЯК (20 %–85 %), чем с БК (2 %–28 %). Повышение pANCA более характерно для панколита при Крона [86; 148] и очень редко встречается при других формах колита, таких как эозинофильный и коллагенозный колит [38; 79]. Согласно метаанализу 60 исследований, включающих 7860 пациентов с ВЗК и 3748 лиц контрольных групп, опубликованных в 2006 г., тесты ASCA+/pANCA – отличали взрослых пациентов, страдающих БК, от тех, у кого был диагностирован ЯК, с чувствительностью 55 % и специфичностью 93 %. Напротив, комбинация pANCA+/ASCA – особенно хорошо работала только у педиатрических пациентов с ЯК (чувствительность 70 % и специфичность 93 %) [87]. Однако когда оценка была ограничена

пациентами с поражением толстой кишки, чувствительность ASCA для БК и специфичность pANCA для ЯК снижались [82; 86; 87; 201]. Недостаточная диагностическая эффективность этих серологических маркеров ограничивает их клиническое применение [88; 234; 262].

Добавление других серологических маркеров к ASCA и pANCA, таких как **антитела к порину наружной мембраны Escherichia coli** (антитела к OmpC), бактериальному флагеллину (антитела к CBir1) и флуоресцирующей псевдомонаде (антитела к I2), обеспечило лишь незначительное диагностическое преимущество [184; 232; 242]. Фактически, вышеупомянутое исследование Melmed G. Y. et al. (2007) [205] ясно показало, что потеря веса и диарея без примеси крови, но не тесты на наличие ASCA, pANCA, антитела к OmpC, CBir1 и к I2, позволяют прогнозировать изменение диагноза с ЯК на БК.

Недавно были опробированы новые серологические тесты для дифференциального диагноза при ВЗК [148; 234]. Новые антигликановые антитела, такие как углеводные антитела к хитобиозиду, углеводные антитела к ламинарибиозиду, углеводные антитела к маннобиозиду, антихитин IgA (Anti-C) и анти-ламинарин IgA (Anti-L) были обнаружены, по крайней мере, у трети пациентов с БК, отрицательно реагирующих на ASCA, но их общая чувствительность в отношении БК была низкой (9 %–27 %, 20 %–26 %, 12 %–27 %, 10 %–25 % и 17 %–26 % соответственно), особенно при поражении толстой кишки [36; 37; 46; 148; 183; 189]. Аналогичным образом синтетические анти-маннозные антитела (AΣMA) показали низкую чувствительность при БК по сравнению с ASCA (38 % против 55 %). Тем не менее, AΣMA наблюдались у 24 % пациентов с БК, которые были отрицательны на ASCA, и были тесно связаны с поражением толстой кишки (ОШ = 1,61; 95 % ДИ: 1,03–2,51; p = 0,03) [82]. В недавнем исследовании Schoepfer A. M. et al. [114] реактивность сыворотки к двум новым антифлагеллинам, антителам к A4-Fla2 и антителам к Fla-X, была обнаружена у 59 % и 57 % пациентов с БК по сравнению только с 6 % пациентов с ЯК, что позволяет предположить их возможную роль в отличии БК от ЯК.

Потребность в высокоинформативных серологических тестах максимальна у пациентов с неклассифицируемым колитом. Одно из европейских многоцентровых клинико-катамнестических исследований показало, что почти половина (48,5 %) пациентов с неклассифицируемым типом ВЗК имели отрицательные результаты анализов на ASCA и pANCA, и что у большинства из них были клинические проявления, препятствующими постановке окончательного диагноза БК или ЯК в течение средней продолжительности заболевания 10,7 лет [262]. У 44 % пациентов с положительными результатами ASCA или pANCA после среднего периода наблюдения в течение 6 лет развился клинический дебют БК или ЯК. Среди 26 пациентов, страдающих НВЗК с результатами ASCA+/pANCA – в начале исследования, у 31 % была позже диагностирована БК и у 8 % – ЯК. Из 20 пациентов с результатами серологического теста ASCA-/pANCA+ в начале исследования в последующем диагностирована БК в 20 %, а ЯК – в 35 % случаев. Сопоставимые результаты были получены и в других исследованиях [86; 89]. Добавление тестов для I2 и антитела к OmpC помимо тестов ASCA и pANCA существенно не увеличивает способность классифицировать нозологическую форму ВЗК при неклассифицируемом колите, при лишь незначительном увеличении прогностической способности и значительном снижении специфичности [39]. В когорте из 20 пациентов с установленным диагнозом неклассифицированного типа ВЗК были обнаружены синтетические анти-маннозные антитела (AΣMA), которые предсказывали развитие БК с более высокой чувствительностью (45 % против 27 %) и специфичностью (100 % против 71 %), чем ASCA, тем самым подтверждая их своеобразную связь с локализацией БК «L2 – колит» [82].

Среди пациентов с НВЗК и ЯК, перенесших проктоколэктомию с восстановительной ПРАР, положительные результаты тестов на ASCA, антитела к L, к OmpC и к CBir1 до операции были связана с повышенным риском развития БК в области резервуара и послеоперационного свища [82; 122; 233]. И, наоборот, высокие показатели хронического воспаления в области илеоанального

резервуара часто регистрировались при НВЗК и ЯК с положительным серологическим профилем (ASCA, высокий титр pANCA, антитела к OmpC/антитела к I2), но в этом случае серологическая положительность могла отражать более агрессивный фенотип вместо другого диагноза [39; 196; 234]. До сих пор отсутствуют убедительные доказательства новых антигликановых антител и новых антифлагеллиновых характеристик у пациентов с неклассифицируемым поражением в илеоцекальной области.

Таким образом, серологические тесты предоставляют дополнительные инструменты для различения БК и ЯК, хотя здесь отмечена существенная неоднородность реактивности антител при обоих заболеваниях. Было предложено положительное прогностическое значение ≥ 85 % как клинически значимое для дифференциации БК и ЯК [53]. Однако приведенные выше данные показывают, что этот критерий не всегда достижим с использованием имеющихся серологических маркеров и что отрицательная прогностическая ценность ниже. Использование обширных серологических панелей, включая ASCA, pANCA и вышеупомянутые новые серологические тесты (например, AΣMA, антитела к A4-Fla2 или антитела к Fla-X) может повысить точность тестирования, особенно среди пациентов с фенотипом, схожим с ЯК, для которых диагностический вопрос наиболее актуален, а чувствительность или специфичность, основанная на тестах ASCA/pANCA, ниже. В конце концов, помимо гистопатологической оценки на основе больших хирургических колоректальных образцов, серологические исследования, вероятно, являются наиболее полезным инструментом для определения диагноза ЯК или БК у пациентов с НВЗК, а также для предсказания результатов хирургического вмешательства после ПРАР.

1.3 Методы оценки активности воспалительных заболеваний кишечника

При постановке диагноза ВЗК принципиально важным является определение тяжести настоящей атаки заболевания, которая соответствует понятию «активность» в зарубежной практике. Термины «клиническая активность» и «тяжесть обострения» эквивалентны, неактивный процесс соответствует ремиссии заболевания. Данный аспект является весьма важным, поскольку он определяет тактику лечения пациента [10]. Системы оценки тяжести атаки называются индексами активности.

Для определения тяжести атаки при ЯК используют критерии Truelove-Witts [268], индекс активности ЯК (индекс клиники Мейо) [18], которые предполагают необходимость проведения физикального исследования, определения показателей красной крови, а также эндоскопического исследования, являющегося инвазивным. Парциальный индекс Мейо без данных эндоскопии, несколько снижает объективную оценку состояния пациента.

Используемая в индексе Мейо шкала оценки состояния слизистой оболочки по Schroeder [229] предполагает выполнение колоноскопии, которая является «золотым стандартом» в оценке эндоскопической активности, но вместе с тем – дорогостоящей инвазивной процедурой, ассоциированной с риском развития ряда осложнений. Исследование гистологической активности по шкале Гебса (2000) [24] предполагает необходимость в специальном оборудовании, реактивах, обученных специалистах.

Для определения тяжести текущего обострения при болезни Крона используются критерии, разработанные Российским Обществом по изучению ВЗК [2], предполагающие оценку клинических проявлений и ряда маркеров воспаления [24]; индекс Харви-Брэдшоу [121], состоящий только из клинических показателей. Данные параметры доступны в рутинной клинической практике, но не содержат оценки эндоскопической картины заболевания.

Индекс активности болезни Крона (ИАБК, индекс Беста [83]; CDAI) включает оценку ряда клинических аспектов, данных объективного обследования, приема антидиарейных препаратов, уровня гематокрита и массы тела. Расчет данного индекса достаточно трудоемок, его валидация варьировала, при подсчете баллов не принимались во внимание субъективная оценка качества жизни, эндоскопические факторы или системные характеристики. Индекс эндоскопической активности БК (CDEIS) [166] предполагает детализацию эндоскопической картины без учета клинических и биохимических данных.

Следует заметить, что клиническая, биохимическая, эндоскопическая, гистологическая активности могут не соответствовать друг другу, что вызывает затруднения в оценке стадии заболевания конкретного пациента [197].

1.4 Подходы к мониторингу воспалительных заболеваний кишечника

Учитывая длительное течение и чрезвычайную клиническую гетерогенность ВЗК, выбор терапии для каждого пациента в конкретный момент времени зависит не только от активности заболевания, но и от оценки общей тяжести болезни, наличия осложнений, прогноза, эффективности предшествующей терапии, состояния организма в целом и индивидуальных фармако-генетических характеристик. Персонифицированная терапия в зависимости от индивидуального прогноза течения ВЗК, основанного на надежных прогностических факторах, представляется оптимальной тактикой при ВЗК. Однако анализ факторов, связанных с течением заболевания, выявляемых, в основном, в ретроспективных исследованиях, недостаточно точен для конкретизации индивидуальной терапии в клинической практике [159; 208].

Для принятия своевременных решений необходим адекватный мониторинг, наличие параметров, позволяющих объективно оценить состояние и прогноз пациента. Мониторинг является ключом к раннему выявлению обострения заболеваний, когда симптомы слабо выражены, а заболевание оказывает

незначительное влияние на качество жизни, и с большей вероятностью будет отвечать на новые терапевтические вмешательства. Мониторинг также необходим после начала применения нового препарата [131; 194; 232]. Поскольку терапия эффективна не для всех пациентов, важно отслеживать ответную реакцию, чтобы быстро определить, какие методы лечения неэффективны, скорректировать или изменить терапию и избежать осложнений заболевания.

В настоящее время существует ряд подходов для оценки прогрессирования ВЗК, включая клиническую оценку, эндоскопию, лучевые методы и биомаркеры.

Кроме того, что результаты разных способов оценки активности часто не совпадают, лучевые методы не доступны повсеместно, дороги, в ряде случаев сопряжены с лучевой нагрузкой на организм, в меньшей степени эффективны для оценки активности при ЯК, в большей степени оценивают трансмуральное воспаление при болезни Крона. Эндоскопическая оценка активности является «золотым стандартом» для ЯК, она не применима для выявления трасмурального воспаления при БК. Кроме того, подготовка к эндоскопическому исследованию кишечника и сама процедура сопряжены с риском развития обострения и технических осложнений (риск перфорации и кровотечения после эндоскопического исследования составляет от 3 до 12 % при ВЗК) [99; 226; 248]. Хотя эндоскопия является стандартным методом диагностики и оценки степени заболевания у пациентов с ВЗК, ее применение ограничено в связи с инвазивностью, высокой стоимостью, осложнениями, доступностью не во всех учреждениях и в ряде случаев – неприемлемостью пациентами.

Адекватный мониторинг ВЗК, основанный на своевременном и разумном использовании преимущественно неинвазивных маркеров активности с последующим внедрением соответствующих методов лечения, является наилучшим инструментом для изменения течения ВЗК. Таким образом, существует настоятельная потребность в проверенных биомаркерах ВЗК.

1.4.1 Роль биомаркеров в мониторинге воспалительных заболеваний кишечника

Несмотря на то, что были протестированы многочисленные биомаркеры, которые могут быть обнаружены в крови, кале и моче, наиболее широко используются в практике СРБ в крови; кальпротектин и лактоферрин в образцах кала.

Определение СРБ доступно в повседневной клинической практике и стоит недорого. Однако его использование в качестве биомаркера ВЗК требует соблюдения ряда условий. Уровень СРБ повышается у пациентов и с другими воспалительными состояниями за пределами толстой кишки [71]. Выработка СРБ регулируется генетическими факторами: установлено, что до 20 % здоровых людей не экспрессируют СРБ в условиях воспаления [136]. Уровень СРБ зависит от других, связанных с пациентом, факторов, которые не до конца понятны; исследование пациентов с началом ревматоидного артрита показало, что уровень СРБ зависит от возраста, пола и индекса массы тела [126]. Кроме того, СРБ повышается у бóльшей доли пациентов с БК, чем с ЯК [152]. Эти факторы становятся важными, когда СРБ используется в качестве биомаркера, значимого для терапевтических решений, поскольку нормальные уровни не обязательно коррелируют с бессимптомным течением заболевания.

Фекальные биомаркеры обладают потенциалом для выявления кишечного воспаления с более высокой специфичностью. Кальпротектин – это кальций-связывающий и цинк-связывающий белок, присутствующий в нейтрофильных гранулоцитах, высвобождаемых в кишечник во время миграции лейкоцитов [250]; его значения определяются с помощью иммуноферментного анализа, с межиндивидуальными и внутрииндивидуальными вариациями (15 % и 2 %, соответственно) [44]. Лактоферрин является железо-связывающим гликопротеином и входит в состав вторичных гранул полиморфноядерных нейтрофилов – первичного компонента острой воспалительной реакции. Уровни

фекального кальпротектина и фекального лактоферрина идентифицируют пациентов с кишечным воспалением с одинаковой чувствительностью [151], хотя тесты на фекальный лактоферрин редко используются в стандартной клинической практике, вероятнее всего, потому, что он менее стабилен при комнатной температуре. Фекальный кальпротектин, напротив, достаточно стабилен благодаря присутствию кальция, по крайней мере, в течение 7 дней. Метаанализ исследований точности диагностики показал, что тесты на фекальный кальпротектин могут дифференцировать пациентов с ВЗК от пациентов с функциональными заболеваниями с обобщенным значением чувствительности 93 % и обобщенным значением специфичности 96 %, при уровнях значений отсечения в пределах от 24 до 150 мкг/г [21; 227]

1.4.2 Мониторинг степени активности заболевания

Инвазивные методы оценки активности заболевания при ВЗК не являются оптимальными из-за отсутствия непосредственной доступности, высокой стоимости, необходимости подготовки кишечника и связанных с этим осложнений. Биомаркеры, которые легко определяются с помощью надежных и дешевых методов, имеют очевидные преимущества для выявления активной стадии заболевания. В ряде исследований уровни фекального кальпротектина, фекального лактоферрина и С-реактивного белка коррелировали с гистологическим заживлением слизистой [113]. В целом, уровень корреляции между СРБ и эндоскопической активностью оказался ниже, чем уровень ассоциаций между фекальными маркерами и активностью заболевания. Информация по чувствительности и специфичности этих 3 биомаркеров была обобщена ранее для исследований, проведенных до 2011 года; сообщалось, что они варьируются от 70 % до 100 % и от 40 % до 100 %, соответственно, для БК и ЯК, в зависимости от уровней cut-off, используемых для выявления поражений слизистой оболочки [153]. Mosli M. H. et al. [75] провели обзор когортных и

контролируемых исследований для оценки диагностической точности тестов на СРБ и фекальный кальпротектин, лактоферрин у пациентов с ВЗК с эндоскопически подтвержденной активностью заболевания. Авторы обнаружили, что определения фекальных кальпротектина и лактоферрина имели большую диагностическую ценность, чем измерения СРБ, поскольку они выявляли активное заболевание с большей чувствительностью (88 % для фекального кальпротектина и 82 % для фекального лактоферрина); концентрация СРБ более 5 мг/л идентифицировала пациентов с эндоскопической активностью ВЗК со специфичностью 92 %, но с чувствительностью только 48 %. Поэтому отрицательный результат теста на СРБ не исключает наличия активного воспаления.

Имеются противоречивые данные о влиянии локализации воспаления на уровень кальпротектина в кале – более высокие уровни отмечались у пациентов с поражениями толстой кишки по сравнению с пациентами с поражениями подвздошной кишки. Уровень фекального кальпротектина также имел более высокое значение корреляции с активностью заболевания в толстой кишке по сравнению с подвздошной кишкой [22]. Для иммуноферментного анализа cut-off уровень фекального кальпротектина в 274 мг/г считался оптимальным для выявления эндоскопической ремиссии у пациентов с БК (ЭИТБК < 3). Этот анализ идентифицировал этих пациентов с площадью под кривой (AUC) 0,925 [22].

Одномоментное поперечное исследование у пациентов с ЯК показало, что фекальный кальпротектин со значением cut-off в 57 мг/г идентифицировал пациентов с эндоскопически активным заболеванием с чувствительностью 91 % и специфичностью 90 % [114].

Хотя был проявлен интерес к уровню скорости оседания эритроцитов, оказалось, что данный показатель менее чувствителен к изменениям у пациентов с активным заболеванием по сравнению с анализами на СРБ, а связанные с этим затраты, неоднозначность интерпретации ограничивают его использование.

1.4.3 Прогнозирование течения заболевания и ответной реакции на терапию

В идеале, биомаркеры могли бы позволить предсказать ответную реакцию на лечение. Такой предсказующий биомаркер может быть связан с механизмом действия лекарственного средства или проявлением заболевания, определяемого биологическим действием. Хотя медицинское обслуживание становится все более персонализированным по многим направлениям, сложные иммунные патологии, такие как ВЗК, включают подгруппы с гетерогенными клиническими и биологическими характеристиками. Единственный биомаркер вряд ли способен предсказать ответную реакцию на все классы лекарственных препаратов для всех терапевтических групп. Кроме того, хотя панели для скрининговой диагностики, основанные на серологических и генетических маркерах ВЗК доступны для пациентов, их клиническая полезность не установлена. В ходе исследования 62 пациентов с ВЗК, получавших терапию с применением ингибиторов фактора некроза опухоли (ФНО), было определено, может ли уровень кальпротектина в кале предсказать реакцию на лечение в течение периода 12 месяцев [109]. Постиндукционные концентрации кальпротектина в кале были ниже у пациентов с терапевтическим эффектом по сравнению с больными не ответивших на лечение, а уровень cut-off для фекального кальпротектина в 168 мкг/г выявил пациентов с устойчивым клиническим ответом с чувствительностью 83 % и специфичностью 74 %. Это значение биомаркера позволило выделить группу пациентов с заживлением слизистой оболочки через 12 месяцев с чувствительностью 79 % и специфичностью 54 % [109].

Среди пациентов с острым тяжелым течениеv ЯК, уровень СРБ в сочетании с частотой стула с кровью после 48 часов внутривенного введения стероидов, давал возможность выявить пациентов, которые, вероятно, будут нуждаться в колэктомии в период данной госпитализации, что предполагает подключение «терапии спасения» на третий день [206]. Низкий уровень сывороточного

альбумина и выявление глубоких язв при колоноскопии также были ассоциированы с необходимостью колэктомии у пациентов с тяжелой течением ЯК [66]. Исследование 90 пациентов из Эдинбурга представило результаты изучения взаимосвязи между уровнями кальпротектином кала и исходами у пациентов с острым тяжелым течением ЯК. Фекальный кальпротектин был значительно повышен у пациентов, нуждающихся в колэктомии; уровень кальпротектина в 1922 мкг/г выявлял этих пациентов со специфичностью 97 %, хотя значение чувствительности было значительно ниже [207]. Недавно было установлено, что наличие остаточных гистологических маркеров воспаления у пациентов с заживлением слизистой оболочки при ЯК является независимым предиктором необходимости госпитализации, приема стероидов и колэктомии.

В большом когортном исследовании пациентов с БК, получавших Инфликсимаб, ранняя нормализация СРБ была связана с восстановлением клинического ответа и заживлением слизистых оболочек. В многоцентровом когортном исследовании было показано, что уровень СРБ менее 10 мкг/г на 12-й неделе после индукционной терапии Адалумабом был независимо связан с заживлением слизистой оболочки на 12-м месяце [51].

Для определения течения заболевания и прогноза при БК был проведен метаанализ, оценивающий способность 4 сывороточных антител к микробным антигенам, участвующим в прогрессировании БК, предсказывать необходимость проведения операций, связанных с БК, или вероятность развития осложнений. Определение антител к порину внешней мембраны (OmpC) показало наибольшую стратификационную способность при выявлении пациентов с риском развития осложнений и хирургических вмешательств [237]. Специфические варианты в гене NOD2 были связаны со стриктурой тонкой кишки при БК и дополнительным риском развития осложнений в сочетании с данными серотипа.

1.4.4 Прогнозирование рецидива заболевания

Биомаркеры могут быть использованы для выявления пациентов с высоким риском рецидива ВЗК, нуждающихся в более интенсивном наблюдении и терапии на ранних стадиях заболевания для предотвращения долгосрочных необратимых структурных повреждений. В нескольких исследованиях оценивалась связь между уровнем СРБ и рецидивом у пациентов с БК или ЯК. В проспективной когорте, состоящей из 351 бессимптомных пациентов с БК, наблюдавшихся в центре специализированных видов медицинской помощи, повышенный уровень СРБ был независимым фактором риска госпитализации в течение 24 месяцев со скорректированным отношением рисков по сравнению с бессимптомными пациентами с БК и нормальным уровнем СРБ. Для больных с ЯК, по данным швейцарской когорты ВЗК, выявлена ассоциация соответствующего уровня СРБ с длительностью госпитализации [57].

Таким образом, в клинической практике имеются подходы в виде оценки клинических симптомов, результатов эндоскопического, гистологического обследования, визуализации методом «поперечного среза» в мониторинге воспалительных заболеваний кишечника, оценке степени повреждения, активности заболевания, прогнозировании течения и ответной реакции на терапию, рецидива заболевания.

Для верификации диагноза ВЗК используются комбинированные индексы, позволяющие оценить тяжесть атаки при ЯК (индекс Мейо), при БК (индекс Беста), эндоскопическую активность (по Schroeder для ЯК, индекс SES CD для БК). Предлагаемые лабораторные исследования, дополняющие морфологические методы исследования, с различной степенью уровня достоверности и убедительности рекомендаций [10; 18] с определенной степенью вероятности позволяют верифицировать диагноз, мониторировать течение болезни, эффективность лечения и определять прогноз ВЗК.

Сохраняется актуальность поиска новых маркеров, которые могли бы дополнить имеющиеся, облегчить и ускорить диагностику, в том числе, дифференциальную, мониторинг пациентов с ВЗК. Исследование показателей красной крови как биомаркеров и предикторов активно проводится при целом ряде патологий: в кардиологической практике показатель распределения эритроцитов по объему (RDW) рассматривается как долговременный прогностический фактор течения острого инфаркта миокарда [45], уровень омега-3 индекса мембран эритроцитов дает стратификацию риска развития внезапной коронарной смерти [191], острого инфаркта миокарда [215; 240]; в неврологии микро-РНК эритроцитов рассматривается как потенциальный биомаркер течения рассеянного склероза [100]; проведен анализ уровня RDW для прогноза течения колоректального рака [211]. Показатели, связанные со структурно-функциональными параметрами эритроцитов, в частности, методом диэлектрофореза, с точки зрения потенциальных биомаркеров ВЗК представляются весьма перспективными, учитывая значимые изменения красного ростка крови при данной патологии, в том числе, связанные с активностью, протяженностью, тяжестью заболевания. Кроме того, несомненным достоинствами метода диэлектрофореза эритроцитов являются простота, высокая скорость и пропускная способность, низкая трудоемкость, отсутствие необходимости пробоподготовки и дополнительных реактивов, большое количество определяемых параметров, компьютерная обработка результатов, наглядность их представления, высокая вопроизводимость, низкий процент погрешности, приемлемость для пациента, возможность сколь угодно частого повторения анализа.

1.5 Анемии и состояние клеток красной крови при воспалительных заболеваний кишечника

Одним из наиболее частых внекишечных проявлений (ВКП) ВЗК является анемия (АН), которая вносит существенный вклад в клиническую картину и снижает качество жизни пациентов [97; 130].

Подтверждённая распространенность АН у пациентов с ВЗК колеблется от 6 % до 74 %. Систематический обзор исследований, опубликованных в период с 2007 по 2012 гг., сообщил о распространенности АН в 27 % у пациентов с БК и 21 % у пациентов с ЯК [210]. Вышеупомянутая вариабельность распространенности АН зависит от различных факторов. Прежде всего, обзор нескольких исследований показал, что определение АН не является однородным. Действительно, общепринятые критерии Всемирной организации здравоохранения для диагностики АН (гемоглобин (Hb) ниже 13 г/дл у мужчин или 12 г/дл у небеременных женщин) [139] были подвергнуты сомнению, поскольку они не учитывают расовые различия, условия окружающей среды и пищевые привычки [50; 213]. Поэтому его использование не может надлежащим образом отражать фактическую распространенность АН в различных популяциях ВЗК.

Кроме того, распространенность АН часто зависит от особенностей исследуемых групп пациентов (например, госпитализированные пациенты по сравнению с амбулаторными). В этом смысле многие исследования показали более высокую распространенность АН среди госпитализированных пациентов с ЯК и БК, чем среди амбулаторных популяций [119; 147; 164; 277]. Распространенность анемий у госпитализированных пациентов с ВЗК колеблется от 44 %, как сообщают Hoffbrand A. V. et al. [116], до 74 %, как выяснили Werlin S. L., Grand R. J. [275]. Однако последние цифры были зарегистрированы в более ранних исследованиях 60–70-х годов, и, очевидно, распространенность заболевания с годами уменьшилась, прежде всего, вследствие повышения уровня

медицинского обслуживания. Наконец, наличие АН находится в прямой зависимости от активности заболевания, а это означает, что показатели красной крови могут изменяться на протяжении всего естественного развития ВЗК [106].

По данным проспективного исследования Koutroubakis I. E. et al., 2015 [146] демографических, клинических, лабораторных и лечебных данных из реестра пациентов с ВЗК в Медицинском центре Университета Питтсбурга с 2009 по 2013 гг., постоянная или рецидивирующая анемия коррелировала с более агрессивным или инвалидизирующим течением заболевания у пациентов с ВЗК. Пациенты с ВЗК и анемией нуждались в большем объеме медицинской помощи, имели более высокие показатели активности заболевания, а также более низкое среднее качество жизни, чем пациенты без анемий ($p < 0,0001$). Анемия (постоянная или рецидивирующая) в течение 3 или более лет независимо соотносилась с частотой госпитализаций ($p < 0,01$), посещением гастроэнтерологических клиник ($p < 0,001$), операциями по поводу ВЗК ($p < 0,01$), более высокими уровнями С-реактивного белка (у пациентов с язвенным колитом, $p < 0,001$) и более высокой скоростью оседания эритроцитов ($p < 0,0001$). Анемия отрицательно коррелировала с показателями качества жизни ($p < 0,03$).

Рядом авторов проанализированы факторы риска развития анемий при ВЗК. Так, Lucendo A. J. et al., 2020 [97] в ретроспективном перекрестном исследовании 1278 пациентов с ВЗК (718 с БК и 560 с ЯК) выявили наличие анемии у 41,2 % пациентов при постановке диагноза (у 47 % и 33,8 % пациентов с БК и ЯК соответственно, $p < 0,001$), анемии тяжелой степени – у 5,5 %. Железодефицитная анемия составила 69,6 % случаев, без различий между пациентами с ЯК и БК. Женский пол был самым сильным фактором риска развития анемии как при БК, так и при ЯК (ОШ 7,11; 95 % ДИ 4,18–12,10 и 6,55; 95% ДИ 3,39–12,63 соответственно), за которым следовал повышенный уровень (> 2 мг/дл) С-реактивного белка (OR 4,08; 95 % ДИ 2,39–6,97 и 4,58; 95 % ДИ 2,26–9,27 соответственно). Текущее курение было фактором риска развития анемии при БК (ОШ 2,23; 95 % ДИ 1,24–4,02), но защитным фактором при ЯК (ОЗ 0,36; 95% ДИ

0,14–0,92). Наличие пенетрирующего варианта БК повышало риск развития анемии (ОШ 3.34; 95 % ДИ 1,36–8,21); при ЯК анемия усиливалась с увеличением протяженности поражения (E2 + E3) (OR 1,80; 95% CI 1,13–2,86). Авторы заключили, что женский пол и активность заболевания являются основными детерминантами анемии при диагностике ВЗК; развитие анемии связано с фенотипическим вариантом при БК и с обширностью поражения при ЯК

Известны несколько патогенетических факторов, способствующих развитию АН у пациентов с ВЗК. Среди них наиболее важными признаны дефицит железа и наличие хронического воспалительного процесса [119; 246].

Критическую роль в гомеостазе железа играет гепсидин – белок, вырабатываемый гепатоцитами, макрофагами и адипоцитами. Гепсидин ингибирует транспортировку железа в плазму из макрофагов или энтероцитов, участвующих в поглощении железа, которое содержится в продуктах питания. Гепсидин выполняет свою функцию, связывая и ингибируя ферропортин (расположенный на базальной пластинке энтероцита), который таким образом инкорпорируется в цитоплазму и расщепляется. Таким образом, железо, даже если оно правильно введено и поглощено, хранится в депо и, следовательно, не участвует в обмене веществ. Повышенная активность гепсидина частично отвечает за снижение усвояемости железа, наблюдаемое при анемии хронического воспаления. Например, при ВЗК некоторые провоспалительные цитокины (например, интерлейкин-6) повышают уровень гепсидина, определяя тем самым секвестрацию железа в макрофагах и неспособность транспортировать этот элемент в плазму [119].

По данным литературы, ЯК более ассоциирован с развитием железодефицитной анемии, в то время как при БК чаще выявляется анемия хронических воспалительных заболеваний [225], хотя в исследовании Testa A. et al. [248] наиболее частой причиной АН как у пациентов с БК, так и у пациентов с ЯК, был дефицит железа, который, авторы связали с более длительным течением заболевания и/или хронической явной / скрытой кровопотерей.

Другие, более редкие причины АН при ВЗК включают дефицит витамина B12 и фолиевой кислоты, медикаментозное подавление деятельности костного мозга и связанную с ВЗК целиакию (глютеновую энтеропатию) [119; 147; 164].

В работе Testa A. et al. [248] у 5,9 % пациентов выявлена макроцитарная АН, которая, вероятно, была вызвана сопутствующим лечением тиопуринами (3 пациента с БК получали азатиоприн в течение 2 лет, 3 лет и 5 лет соответственно) или плохим всасыванием фолиевой кислоты и витамина B12 после операции, в случае БК (5 пациентов – 3,7 %). Среди других причин АН (16,4 %) авторы указали на наличие аутоиммунной гемолитической анемии, которая была обнаружена у двух пациентов с ЯК во время терапии Азатиоприном (один молодой мужчина) и Инфликсимабом (одна молодая женщина). Это состояние индуцировалось выработкой антител с перекрестной реактивностью с эритроцитами [244].

Проблема анемии при ВЗК рассматривается и в связи с приемом ряда лекарственных препаратов. Поскольку фактор некроза опухоли-α (TNF-α) участвует в индукции воспалительной анемии, A. J. Lucendo et al. [97] проанализировано влияние анти-ФНО-α агентов на анемию у пациентов с ВЗК. При обследовании 362 пациентов с ВЗК (271 с БК и 91 с ЯК) в 29,3 % случаев выявлена анемия, снижение частоты которой на 14,4 % и 7,8 % произошло через 6 и 12 месяцев, соответственно, терапии препаратами анти-ФНО-α было ассоциировано с уменьшением активности заболевания и зависело от приема препаратов железа во время лечения. Авторы сделали вывод о том, что контроль активности заболевания с помощью анти-TNF-терапии значительно и независимо связан с разрешением анемии при ВЗК, без соответствующей роли заместительной терапии железом.

Показатели красной крови, такие как количество эритроцитов, уровень гемоглобина, а также величина СОЭ, широко используются в клинической практике для объективизации состояния пациента с ВЗК [10; 18]. Они входят в число критериев, определяющих тяжесть обострения при ЯК (критерии Truelove-

Witts при ЯК), наличие анемии и ее степень входит в число осложнений ВЗК; исследование развернутого анализа крови, показателей обмена железа, уровня фолиевой кислоты, витамина B12 рекомендовано при проведении дифференциальной диагностики анемий [10; 18].

В связи со значительной вовлеченностью красного ростка при ВЗК исследователи используют и иные подходы для объективизации оценки железодефицитного эритропоэза. Так, Urrechaga E. et al. [56] с целью анализа состояния обмена железа при ВЗК предложили использовать среднее содержание гемоглобина в ретикулоцитах (MCHr). Обследовав 124 пациента с ВЗК, авторы обнаружили наличие железодефицитной анемии у 47,6 % пациентов, анемии хронического заболевания в 31,5 % случаев, у 20,9 % была анемия смешанного генеза. Пациенты с анемией хронического заболевания или смешанной анемией показали функциональный дефицит железа: нормальный или высокий уровень ферритина и низкий уровень среднего содержания гемоглобина в ретикулоцитах. Площадь под кривой составляла 0,858 (95% ДИ 0,742–0,942), учитывая уровень cut-off в 30,3 пг, с чувствительностью 82,2 %, специфичностью 83,3 %. Авторы заключают, что MCHr предоставляет информацию о доступности железа у пациентов с ВЗК и является надежным тестом для оценки снабжения железом в процессе эритропоэза.

Таким образом, анемии различного генеза являются одним из наиболее частых внекишечных проявлений ВЗК. Различная частота железодефицитных анемий и анемий хронических заболеваний у пациентов с БК и ЯК, обусловленная различным патогенезом этих патологий (уровень гепсидина, ассоциированный с отличающимися паттернами цитокинов), выявляется не во всех исследованиях. Выявлены факторы, ассоциированные с развитием анемии при ВЗК (женский пол, активность процесса), ряд из которых отличен для пациентов с болезнью Крона (фенотипический вариант) и язвенным колитом (протяженность поражения). Отмечены эффекты патогенетической терапии по снижению бремени анемии при

ВЗК. Рядом авторов предприняты попытки использовать параметры эритроцитов для оценки железодефицитного эритропоэза при ВЗК.

Принимая во внимание, что уровень гемоглобина, СОЭ являются показателями, входящими в стандартные индексы оценки тяжести обострения (критерии Truelove-Witts при ЯК), использование других характеристик клеток красной крови в диагностических целях при ВЗК представляется вполне уместным.

Проведенные ранее исследования электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с использованием метода диэлектрофореза, показали возможность использования различных сочетаний этих характеристик для определения степени фиброза печени [42], алкогольной и неалкогольной этиологии заболевания [8; 9], активности при стеатогепатите [42], степени компенсации при развитии цирроза печени [12], показаны их ассоциации с уровнем вирусной нагрузки при хронических вирусных гепатитах [1; 15], при синдроме Жильбера [5]. Показаны возможности использования «панелей» различных вязкоупругих параметров эритроцитов для выявления стадий заболевания при колоректальном раке [182]. Получены перспективные данные по дифференцированию степени реологических нарушений с использованием данных показателей у пациентов с сахарным диабетом [203]. Отмечен ряд особенностей, значимых для выявления различных патогенетических вариантов при цереброваскулярной патологии [257].

Возможность использования различных комбинаций из более, чем 20 параметров эритроцитов с помощью метода диэлектрофореза, которые тесно ассоциированы с метаболическими сдвигами представляется достаточно перспективной для определения нозологической формы, активности и прогноза ВЗК.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках темы «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению» ГЗ № 0324-2018-0001, регистрационный № АААА-А17-117112850280-2.

2.1 Дизайн исследования

Настоящее исследование имеет дизайн по типу «серия случаев» с фрагментом проспективного исследования (рисунок 2). Все обследованные лица заполняли форму Информированного согласия на участие в исследовании и обработку персональных данных. Исследование выполнено с одобрения Комитета Биомедицинской Этики Научно-исследовательского института терапии и профилактической медицины – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук" (17.12.2018, протокол № 120). Набор пациентов на базе гастроэнтерологического отделения ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Новосибирск» проводился в рамках договора о научно-техническом сотрудничестве от 10.01.2017), кабинета воспалительных заболеваний кишечника в составе Городского бюджетного учреждения здравоохранения НСО «Городской инфекционной клинической больницы № 1», медицинского центра «Гастроцентр» в период с 2018 по 2020 годы.

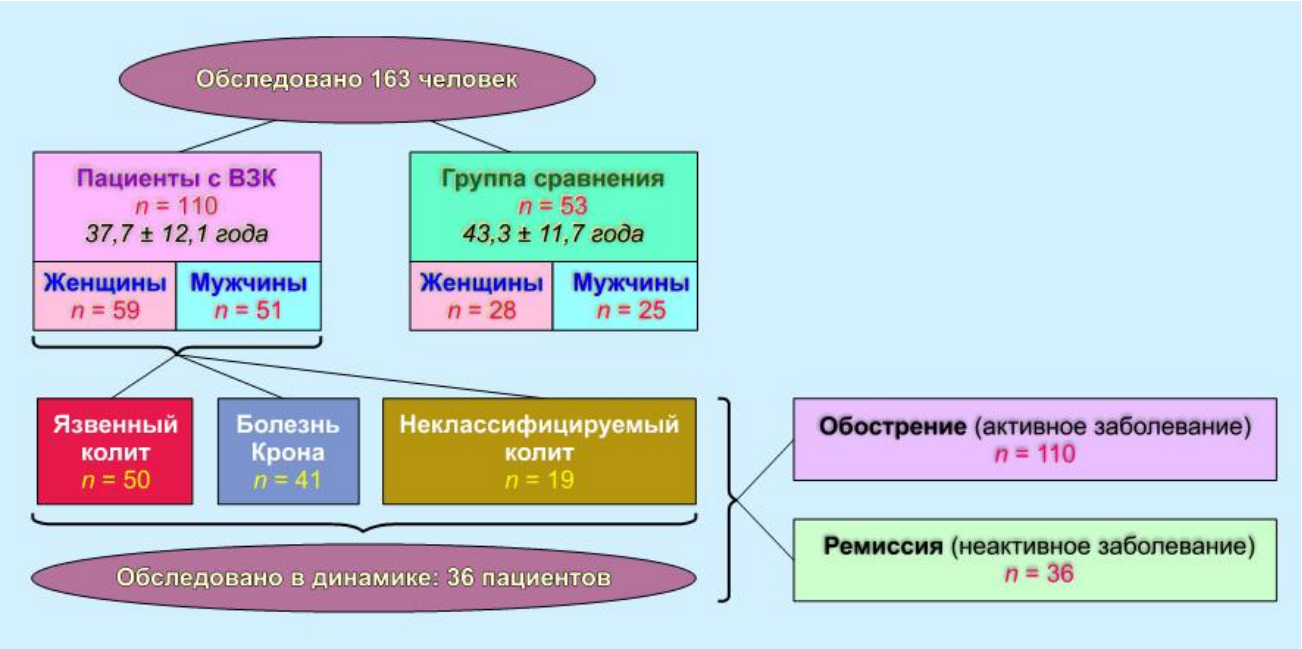


Рисунок 2 – Группы обследованных

36 пациентам с ВЗК обследование выполнено в динамике в течение 6–12 месяцев. Всем пациентам и лицам группы контроля выполнено обследование следующими методами:

а) клинико-инструментальное обследование (данные анамнеза, физикального обследования, лабораторных, инструментальных методов в соответствии с клиническими показаниями);

б) исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов методом диэлектрофореза с помощью электрооптической системы детекции клеток.

2.2 Общая характеристика обследованных пациентов

В исследование включены пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника, находившиеся на обследовании и лечении в гастроэнтерологическом отделении ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» г. Новосибирск», кабинете воспалительных заболеваний кишечника в составе Городского

бюджетного учреждения здравоохранения НСО «Городской инфекционной клинической больницы №1», в медицинском центре «Гастроцентр» в период с 2018 по 2020 годы.

Критерии включения в исследование: пациенты с верифицированным, согласно общепринятым критериям, диагнозом «болезнь Крона», «язвенный колит», «неклассифицируемый колит»; подписание информированного согласия на участие в исследовании.

Критериями исключения оказались патологии кишечника другого генеза, клинически значимая тяжелая сопутствующая патология в острой или стадии обострения (хронические инфекционно-воспалительные заболевания, почечная недостаточность, дыхательная недостаточность, печеночная недостаточность); известные активные онкологические заболевания; отказ от подписания согласия на участие в исследовании.

Согласно приведенным критериям в обследование вошли 110 пациентов с ВЗК (в возрасте от 21 до 75 лет, средний возраст (37,7 ± 12,1) года, 59 женщин и 51 мужчина, в стадии обострения или ремиссии. Среди них оказались 50 пациентов с язвенным колитом, 41 – с болезнью Крона, 19 – с неклассифицируемым колитом. В последующем 36 пациент был обследован в динамике наблюдения через 6–12 месяцев.

В качестве группы контроля были отобраны лица, проходившие профилактическое обследование – 53 человека, сопоставимые с основными группами по возрасту, средний возраст (43,3 ± 11,7) года и полу (28 женщин и 25 мужчин), ведущие здоровый образ жизни, употребляющие алкоголь не чаще 1–2 раз в месяц в дозах не превышающих 20 г в сутки в пересчете на чистый этанол, без манифестирующей патологии внутренних органов.

2.2.1 Диагностические критерии заболеваний кишечника, использованные для выбора групп пациентов

Клинический анализ обследованной группы больных ВЗК проведен по форме, характеру и тяжести течения заболевания, локализации и распространенности воспалительного процесса, эффективности базисной терапии.

Особое внимание было уделено активности заболевания, т. е. наличию или отсутствию обострения.

Следует отметить, понятия «обострение» и «ремиссия» у пациентов с ВЗК предполагает детализацию, касающуюся клинических, эндоскопических, гистологических, лучевых и лабораторных проявлений. В отношении язвенного колита, который определяют как хроническое заболевание толстой кишки, характеризующееся иммунным воспалением ее слизистой оболочки [18]. При ЯК поражается только толстая кишка (за исключением ретроградного илеита), в процесс обязательно вовлекается прямая кишка, воспаление чаще всего ограничивается слизистой оболочкой (за исключением острого тяжелого колита) и носит диффузный характер.

Определение болезни Крона постулирует, что это хроническое, рецидивирующее заболевание желудочно-кишечного тракта неясной этиологии, характеризующееся трансмуральным, сегментарным, гранулематозным воспалением с развитием местных и системных осложнений [10].

Формулировка диагноза у пациентов проводилась в соответствии с современными рекомендациями [10; 18]. При ЯК в диагнозе указывались: характер течения; протяженность процесса; тяжесть заболевания; клиническая, эндоскопическая, гистологическая активность; стероидозависимость; стероидорезистентность; внекишечные проявления; осложнения. Для описания БК использовались: характер течения; фенотипический вариант; локализация и протяженность процесса; тяжесть заболевания; клиническая, эндоскопическая,

гистологическая активность; стероидозависимость; стероидорезистентность; внекишечные проявления; осложнения.

Обострение (рецидив, атака) ЯК или БК описывается как появление типичных симптомов заболевания у больных ВЗК в стадии клинической ремиссии, спонтанной или медикаментозно поддерживаемой. Обострение ЯК характеризовалось появлением типичных клинических симптомов, изменением данных инструментальных и лабораторных методов исследования. Степень тяжести обострения ВЗК (активности заболеваний) оценивалось с помощью рекомендуемых в настоящее время критериев. Для оценки активности ЯК использовались критерии Truelove-Witts, индекс Мейо (DAI) полный и парциальный, индексы Schroeder, Гебса. Активность БК оценивалась с применением индекса активности БК (ИАБК, CDAI, индекс Беста), эндоскопического индекса тяжести БК (SES CD). Индексы активности язвенного колита и болезни Крона, внекишечные проявления заболеваний установлены в соответствии с Клиническими рекомендациями по диагностике и лечению болезни Крона у взрослых, 2020 [10]; Клиническими рекомендациями по язвенному колиту, утвержденными Минздравом России, 2020 [18].

Термин «неклассифицируемый колит» (НКК) использовался, когда после изучения истории болезни, анализа эндоскопических проявлений, гистологического исследования множественных биопсий слизистой оболочки и адекватного рентгенологического исследования не могло быть сделано точное различие между ЯК и БК и были исключены колиты, обусловленные другой причиной [256]. Для оценки тяжести атаки у пациентов с НКК был использован индекс активности ЯК (индекс Мейо).

2.3 Методы обследования

Обследование пациентов с БК, ЯК и НКК включало сбор анамнеза, клинико-лабораторные и инструментальные исследования для оценки состояния заболевания по клиническим показаниям.

Обследование лиц группы контроля выполняли на тех же клинических базах, что и больных ВЗК при профилактических осмотрах. У всех включенных в исследование собирали анамнестические и демографические данные, проводили физикальный осмотр, клинико-инструментальное обследование, осуществляли забор крови для лабораторных и биохимических анализов.

Биохимические анализы и исследования показателей красной крови проводили в Лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний (зав. лабораторией д-р биол. наук, доц. Каштанова Е. В.) НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН. Стандартизацию и контроль качества результатов биохимических исследований выполняли ежегодно в соответствии с требованиями «Федеральной системы внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований».

2.3.1 Исследование показателей красной крови

Всем пациентам с ВЗК и обследуемым группы контроля выполнен общий анализ крови с использованием автоматического гематологического анализатора HTIMicroCC-20 Plus (HighTechnology, Inc, США), регистрационное удостоверение от 09.11.2017 № ФСЗ 2010/07756, свидетельство о поверке № 200566 от 11.03.2020.

Были проанализированы следующие показатели красной крови: количество эритроцитов ($\times 10^{12}$/л), уровень гемоглобина (г/л), гематокрит (%), СОЭ (мм/ч), средний корпускулярный объем эритроцита (MCV) (фл), среднее содержание

гемоглобина в 1 эритроците (МСН) (пг), среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (МСНС) (г/л).

Исследованы показатели обмена железа: сывороточное железо (мкмоль/л), ферритин (мкг/л), трансферрин (г/л), % насыщения трансферрина железом (НТЖ). Данные показатели в совокупности с уровнем острофазового белка – С-реактивного протеина (СРБ, мг/л, определенного методом иммунотурбидиметрии), СОЭ послужили основанием для выделения анемий различного генеза у пациентов с ВЗК.

В соответствии с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения, анемия определялась при наличии значений гемоглобина (Hb < 130) г/л у мужчин и (Hb < 120) г/л у женщин. Тяжелая анемия у больных ВЗК определялась при (Hb < 100) г/л в соответствии с рекомендациями Европейского консенсуса по дефициту железа и анемии при ВЗК, 2015 [139]. В соответствии с этим же консенсусом [103], железодефицитная анемия (ЖДА) диагностировалась при содержании ферритина < 30 нг/мл и насыщении трансферрина (НТЖ) < 16 %. Анемия хронического заболевания (АХЗ) диагностировалась при одновременном повышении уровня СРБ/СОЭ с НТЖ < 16 % и ферритином > 100 нг/мл; смешанный тип АН рассматривался при НТЖ < 16 % и 30 нг/мл < ферритина < 100 нг/мл. Пациенты, не классифицируемые в соответствии с этими определениями, были отнесены к категории «прочие виды анемии».

У всех пациентов с ВЗК и лиц группы контроля выполнено исследование электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов методом диэлектрофореза эритроцитов в неоднородном переменном электрическом поле (ДЭФ в НПЭП) на базе биохимической лаборатории (группа гемостаза) НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ИЦиГ СО РАН (руководитель группы ст. науч. сотр., канд. мед. наук Громов А. А.) совместно с сотрудниками из Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и

благополучия человека (Кольцово, Новосибирская область), Россия. Метрологическая проработка и аттестация референтных методик измерения параметров клеток красной крови выполнена в рамках темы Государственного Задания «Эритроцит» на базе Федерального государственного унитарного предприятия «Сибирский государственный ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт метрологии» (2016–2017 гг.). Суть метода состоит в том, что индивидуальное взаимодействие каждой отдельной клетки суспензии с неоднородным переменным электрическим полем (НПЭП) сопровождается поляризацией ее положительных и отрицательных электрических зарядов. В результате поляризации в клеточном объеме возникает индуцированный дипольный момент. Дипольный момент и коэффициент поляризации отдельной клетки связаны с пространственным расположением и движением электрических зарядов по всему клеточному объему. Поляризованная клетка, находящаяся в непроводящей суспензии, под действием силы НПЭП приходит в поступательное движение. В НПЭП наблюдаются следующие эффекты:

а) направленное перемещение и осаждение клеток на электродах;

б) ориентация клеток вдоль силовых линий электрического поля;

в) образование кооперативных цепочек из клеток;

г) деформация формы клеток;

д) вращение одиночных клеток;

е) кооперативное вращение клеток друг относительно друга.

Подробное описание метода, схема установки и формулы подсчета ряда параметров представлены в справочном приложении А.

Для проведения исследования электрических и вязкоупругих показателей методом диэлектрофореза кровь объемом 2 мл забирали вакутейнерами в 3,7 % цитратный буфер в соотношении 9:1, через 1 час 9,7–12 мкл крови вносили в 0,3 М раствор сахарозы (pH = 7,36) с коэффициентом k 0,9–1,1 : 29–31 и переносили суспензию исследуемых эритроцитов с концентрацией клеток

1,6–1,8·10^5/мкл в измерительную кювету. Сразу после разведения эритроцитов производились измерения. Морфология эритроцитов исследовалась в световом микроскопе в нативных препаратах, морфометрия эритроцитов проводилась по стандартным методикам.

В измерительной ячейке на клетки воздействовали неоднородным переменным электрическим полем со следующими параметрами: напряженность электрического поля 10^5 В/м**,** градиент напряженности электрического поля 10^{11} В/м^2, частотный диапазон $5\cdot10^4$–10^6Гц. Изучение электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов проводили на четырех фиксированных частотах: $5\cdot10^4$ Гц, 10^5 Гц, $5\cdot10^5$ Гц и 10^6 Гц.

Оценивали средний диаметр (м), доли дискоцитов, сфероцитов, деформированных клеток (%), характер поверхности (усл. ед.), поляризуемость клеток на разных частотах диапазона (м^3), относительную поляризуемость (соотношение величины показателя на 10^6 Гц к 10^5 Гц), обобщенные показатели жесткости (Н/м), вязкости (Па·с), электропроводность мембран (См/м), индексы деструкции (на разных частотах диапазона) (%) и агрегации (усл. ед.), амплитуду деформации эритроцитов на частоте 10^6 Гц (м), степень деформации клеток на частоте 5×10^5 Гц (%), емкость мембран эритроцитов (Ф), скорость движения клеток к электродам (мкм/с), положение равновесной частоты (Гц), величину дипольного момента (Кл·м). Для распознавания образа клеток и компьютерной обработки данных использовали пакет оригинальных программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода составила 7–12 %. По данному методу аттестован государственный эталон единицы величины электрической поляризуемости биологических объектов 1-го разряда (удостоверение государственного эталона физической величины поляризуемости от 17.01.2017, сертификат калибровки № 25-02 ФГУП СНИИМ от 21.11.2016, свидетельство об аттестации государственного эталона единицы электрической поляризуемости № 0195-1 от 22.11.2016). Создана и аттестована референтная методика измерения

амплитуды деформации эритроцитов (ФГУП СНИИМ, 2017 г.). Зарегистрирована программа по обработке данных, полученных методом диэлектрофореза «Определение параметров эритроцитов с помощью неоднородного переменного электрического поля» (см. приложение А).

2.3.2 Исследование биохимических показателей

Биохимические исследования проводили в Лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний (зав. лабораторией д-р биол. наук, доц. Каштанова Е. В.) НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН.

С использованием наборов «Thermo Fisher Scientific» (Финляндия) на биохимическом анализаторе «Konelab Prime 30i» (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) определяли: концентрации глюкозы – глюкозооксидазным методом Триндера; содержание белка – биуретовым методом; концентрации АЛТ, АСТ, Гамма-ГТ, амилазы – кинетическими методами, рекомендованными IFCC (International Federation of Clinical Chemistryand Laboratory Medicine – Международной Федерации Клинической Химии); уровни щелочной фосфатазы – кинетическим методом, рекомендованными SCE (The Scandinavian Committee on Enzymes – Комитет по Ферментам Скандинавского Общества Клинической Химии и Клинической Физиологии); содержание мочевой кислоты – уриказным методом Триндера (с аскорбатоксидазой); концентрации мочевины – уреазным энзиматическим методом; уровни креатинина – кинетическим методом Яффе; содержание железа – колориметрическим методом с ференом S; уровни общего билирубина – с солью n-нитробензодиазония. Концентрацию общего холестерина (ОХС), триглицеридов (ТГ) и липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) определяли прямыми энзиматическими методами с использованием наборов «Thermo Fisher Scientific» (Финляндия) на биохимическом анализаторе «Konelab

Prime 30i» (Thermo Fisher Scientific, Финляндия). Уровни ЛПНП рассчитаны с использованием формулы Фридвальда.

Методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием стандартных наборов ELISA (Cloud-Clone Corp., USA) на ИФА анализаторе Multiscan EX (Thermo Labsystem, Финляндия) определяли концентрации С-реактивного белка (Biomerica).

Концентрации фибриногена в плазме крови определяли клоттинговым методом по Клауссу.

Пациентам с ВЗК проводилось определение фекального кальпротектина (белок нейтрофилов, маркер кишечного воспаления) методом иммуноферментного анализа (R-Biopharm, Германия) в KDL-лаборатории (референтные значения: < 50 мкг/г).

2.4 Статистическая обработка

Статистическая обработка выполнена с использованием программы IBM SPSS Statistics (версия 26.0). Определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова – Смирнова. В случае нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD) (M ± SD). При сравнении двух нормально распределенных выборок использовался t-тест Стъюдента. При отсутствии нормального распределения вычислялись медиана (Me), 25 и 75 % процентили (25 %; 75 %) (Me (25 %; 75 %)) достоверность различия показателей оценивали с помощью непараметрических критериев (U-критерий Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса, хи-квадрат). При сравнении показателей более, чем в двух группах применена поправка Бонферрони. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05. Параметры электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов по характеру распределения отличались, поэтому в таблицах для единообразия представления

материала показаны и средние величины со стандартным отклонением (M ± SD), и медиана с процентильным распределением Me (25 %; 75 %).

Номинальные данные представлены в виде относительных частот объектов исследования (n, %), для оценки их различий использовался критерий χ^2.

Связи между признаками оценивались вычислением коэффициента линейной корреляции Пирсона, для интервальных и порядковых переменных, не подчиняющихся нормальному распределению, ранговым коэффициентом корреляции Спирмена.

Для определения свойств эритроцитов, являющихся предикторами обострения, проведена процедура нормализации уровней показателей. Для визуализации наблюдаемых отличий в уровнях параметров эритроцитов в стадии обострения и ремиссии, а также корреляций показателей красной крови использованы тепловые карты (Heatmap). Выявление различий между параметрами эритроцитов, ассоциированными с разными стадиями ВЗК, обеспечил дискриминантный анализ методом наименьших квадратов (Partial least squares-discriminant analysis – ortho PLS-DA). Для выявления электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, являющихся предикторами обострения, использованы парный (сопоставления уровней параметра одного пациента в стадии обострения и ремиссии) и непарный (сравнение уровней параметров всей группы больных в стадии обострения и ремиссии) t-тест и метод Volcano plot, кластерный анализ (K-means clustering) (система методов машинного обучения – Random Forest) с применением программного обеспечения MATLAB (R2019a, Math Works) и языка программирования R с использованием стандартных библиотек обучающих классификаций и наборов инструментов статистики [55].

Оценка диагностической точности показателей в качестве биомаркеров стадий заболевания, предикторов обострения произведена с помощью ROC-анализа.

Мощность выборки рассчитывалась при помощи специальной формулы:

$$N_{min} = 15.4*(p*(1-p))/W^{2.} \quad (1)$$

где p – ожидаемое значение вероятности случайного события;

W – ширина доверительного интервала для значения вероятности.

По этой формуле минимальный объем выборки пациентов с ВЗК составил 106 человек.

Статистическая обработка материала проведена под руководством доц. кафедры вычислительной техники Новосибирского Государственного Технического Университета канд. техн. наук Яковиной И. Н., при консультировании доц. канд. хим. наук Шестова А. А., Медицинский факультет Перельмана, Университет Пенсильвании, Филадельфия, Пенсильвания (США).

Личный вклад автора состоял в клиническом осмотре больных, контроле за их состоянием, заполнении амбулаторных карт, сборе первичного материала для исследования электрических, вязкоупругих параметров эритроцитов, пробоподготовке биологических образцов, создании базы данных, статистической обработке материалов и анализе результатов исследования, написании и представлении публикаций и презентаций.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Клиническая характеристика обследованных пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника

3.1.1 Клиническая характеристика пациентов с язвенным колитом

В группе 50 пациентов с язвенным колитом, средний возраст (35,64 ± 11,03) года оказалось 29 женщин (58 %) и 21 мужчина (42 %). Преобладали пациенты с рецидивирующим течением заболевания (43 человека, 86 %), острая форма и непрерывное течение отмечено у 3 (6 %) и 4 (8 %) соответственно. Средняя продолжительность заболевания в группе составила (5,59 ± 4,36) года.

По протяженности поражения у 17 пациентов был диагностирован дистальный процесс (34 %), у 17 – левостороннее поражение (34 %), в 3 случаях – субтотальное (6 %), в 13 – тотальное поражение (26 %).

По тяжести заболевания преобладали пациенты со среднетяжелым течением – 32 человека (64 %) и легким течением (7 пациентов – 14 %), только в 7 случаях (14 %) был установлен тяжелый язвенный колит.

На момент первого обследования у 42 пациентов (84 %) выявлено обострение ЯК, 8 человек (16 %) находились в состоянии ремиссии. В последующем (период от полугода до года) 23 пациента были обследованы в динамике (в 18 случаях диагностировано обострение, неактивное заболевание отмечено у 5 пациентов). Таким образом, с учетом динамического наблюдения нам удалось оценить показатели в 60 случаях обострения и 13 случаях ремиссии ЯК.

Поскольку клиническая, эндоскопическая, гистологическая активность могут различаться и не соответствовать друг другу, различные виды активности были проанализированы отдельно.

На момент первого обследования преобладали пациенты с умеренной 32 человека (64 %) и минимальной (15 пациентов – 30 %) клинической активностью, лишь в 3 случаях она оказалась высокой (6 %). У большей части обследованных с ЯК выявлена умеренная (31 пациент – 62 %) и минимальная (8 человек – 16 %) эндоскопическая активность, в 11 случаях она оказалась высокой (22 %).

При оценке тяжести настоящей атаки согласно индексу активности ЯК (индексу Мейо) у 8 пациентов (16 %) сумма баллов не превышала 2, что соответствовало ремиссии; у 14 пациентов (28 %) находилась в пределах 3–5 баллов, что соответствовало легкой атаке ЯК; у большей части больных – 27 (54 %) индекс находился в пределах от 6 до 9 баллов (среднетяжелая атака), у одного пациента (2 %) индекс составил 11 баллов, что отражало тяжелую атаку ЯК.

При оценке гистологической активности по шкале Гебса оказалось, что большая часть пациентов с ЯК – 30 человек (60 %) имели 0–3 степени активности, у 20 пациентов (40 %) она соответствовала 4–5 степени.

Поскольку для оценки степени тяжести заболевания в целом следует учитывать тяжесть текущей атаки, наличие внекишечных проявлений, осложнений и рефрактерность к лечению, данные аспекты также были проанализированы в обследованной группе пациентов с ЯК.

В ходе терапии стероидозависимость сформировалась у 12 пациентов с ЯК, что составило 24 %.

Анализируя основные внекишечные проявления язвенного колита в группе обследованных пациентов, выяснилось, что аутоиммунные, связанные с активностью заболевания, артропатии выявлены у 7 человек (14 %), у одного пациента (2 %) выявлены узловатая эритема, афтозный стоматит, иридоциклит. Среди аутоиммунных патологий, не связанных с активностью ЯК, следует отметить первичный склерозирующий холангит, выявленный у 1 пациента. В 3 случаях (6 %) диагностирован анкилозирующий сакроилеит. У ряда пациентов выявлены системные проявления, обусловленные длительным воспалением и

метаболическими нарушениями: холелитиаз у 2 пациентов (4 %), стеатоз, стеатогепатит – у 3 больных (6 %), тромбоз периферических вен диагностирован у 2 больных (4 %). Следует заметить, что большая часть больных с ЯК (35 человек, 70 %) имела анемию, преимущественно легкой и средней степени тяжести. При этом в подавляющем числе случаев анемия соответствовала критериям железодефицитной (32 пациента, 64 %), у 1 пациента (2 %) выявлена анемия хронических воспалительных заболеваний, у 6 человек (12 %) анемия имела смешанный генез.

Принимая во внимание вышеперечисленные аспекты, большая часть пациентов 32 человека (64 %) имела среднюю тяжесть течения заболевания, у 7 больных она была оценена как легкая (14 %), в 7 случаях отмечено тяжелое течение ЯК.

Клиническая характеристика пациентов с ЯК представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Клиническая характеристика группы пациентов с язвенным колитом

Параметры	Пациенты с ЯК (n = 50)		
	Количество, n	% от группы с ЯК	% от всей группы с ВЗК
Характер течения			
острое	3	6	2,78
рецидивирующее	43	86	39,81
непрерывное	4	8	3,7
Протяженность процесса			
дистальный колит	17	34	15,74
левосторонний колит	17	34	15,74
субтотальный колит	3	6	2,78
тотальный колит	13	26	12,04

Параметры	Пациенты с ЯК (n = 50)		
	Количество, n	% от группы с ЯК	% от всей группы с ВЗК
Тяжесть процесса			
легкая	7	14	6,48
умеренная	32	64	29,63
тяжелая	7	14	6,48
Клиническая активность			
минимальная	15	30	13,89
умеренная	32	64	29,63
высокая	3	6	2,78
Эндоскопическая активность			
минимальная	8	16	7,41
умеренная	31	62	28,7
высокая	11	22	10,19
Гистологическая активность			
1-я степень	2	4	1,85
2-я степень	12	24	11,11
3-я степень	15	30	13,89
4-я степень	12	24	11,11
5-я степень	8	16	7,41
Индекс Мейо			
0–2 балла (ремиссия)	8	16	7,41
3–5 баллов (легкая атака)	14	28	12,96
6–10 баллов (среднетяжелая атака)	27	54	25
11–12 баллов (тяжелая атака)	1	2	0,93
Стероидозависимость	12	24	11,11
Внекишечные проявления аутоиммунные, связанные с активность ЯК			
артропатии	7	14	6,48
поражение кожи (узловатая эритема)	1	2	0,93

Параметры	Пациенты с ЯК (n = 50)		
	Количество, n	% от группы с ЯК	% от всей группы с ВЗК
поражение слизистых (афтозный стоматит)	1	2	0,93
поражение глаз (иридоциклит)	1	2	0,93
Внекишечные проявления аутоиммунные, не связанные с активность ЯК			
первичный склерозирующий холангит	1	2	0,93
анкилозирующий сакроилеит	3	6	2,78
Обусловленные длительным воспалением и метаболическими нарушениями			
холелитиаз	2	4	1,85
стеатоз, стеатогепатит	3	6	2,78
тромбоз периферических вен	2	4	1,85
Анемия	39	78	35,78
железодефицитная анемия	32	64	29,63
анемия хронических заболеваний	1	2	0,93
анемия смешанного генеза	6	12	5,56

Таким образом, в группе обследованных больных с язвенным колитом преобладали пациенты с рецидивирующим течением заболевания легкой или средней степени тяжести в стадии обострения, преимущественно с минимальной или умеренной клинической, эндоскопической и гистологической активностью, у части из которых сформировалась стероидозависимомость, с наиболее частым осложнением в виде железодефицитной анемии.

3.1.2 Клиническая характеристика пациентов с болезнью Крона

Группа пациентов с болезнью Крона состояла из 41 человека, средний возраст (38 ± 13,05) лет, из них 21 мужчина (51,2 %) и 20 женщин (49,8 %). Средняя длительность анамнеза составила (7,96 ± 6,81) года. Большая часть

пациентов – 38 человек (92,68 %) – имели хроническое течение заболевания (из них 34 (82,93 %) – рецидивирующее; 4 пациента (9,76 %) – непрерывное течение). У троих больных (7,32 %) отмечено острое течение БК.

У преобладающего числа пациентов – 30 (73,17 %) выявлена инфильтративно-воспалительная форма БК, у 6 (14,63 %) – пенетрирующий, у 5 (12,2 %) – стенозирующий фенотипический вариант БК.

Распространенное поражение более 100 см выявлено у 26 пациентов с БК (63,41 %); 14 (34,15 %) имели локализованную БК.

У большей части обследованных 27 человек (65,85 %) воспалительный процесс локализовался в толстой кишке, включая прямую, или в подвздошной кишке (терминальный илеит) – 9 пациентов (21,95 %). Илеоцекальный отдел оказался пораженным в 2 случаях (4,88 %), сочетанное поражение разных отделов ЖКТ выявлено у 3 больных (7,32 %). Следует заметить, что 5 пациентов (12,2 %) наблюдались с язвенной болезнью 12-перстной кишки, выявленной ранее.

На момент первого обследования 34 пациента (82,9 %) находились в стадии обострения, 7 человек (17,1 %) – в стадии ремиссии. В динамике (через 0,5–1 год) удалось обследовать 8 пациентов, из которых у 5 заболевание было в активной фазе, у троих – в неактивной. Таким образом, за все время наблюдения удалось оценить показатели в 39 случаях обострения и 10 – ремиссии БК. При оценке индекса активности болезни Крона – индекса Беста пациенты в стадии ремиссии имели средние значения показателя, составляющие (140 ± 13,7) баллов, в стадии обострения – (181,1 ± 37,4) балла. У 11 пациентов (26,8 %) в анамнезе отмечено наличие обострений с индексом Беста более 450 баллов.

По клинической активности большая часть больных с БК имели умеренную 26 (63,4 %) или минимальную – 10 (24,4 %) степень, лишь в 4 случаях (9,76 %) она оказалась высокой.

Оценка индекса эндоскопической активности БК (CDEIS) привела к следующему ранжированию в группе: у троих пациентов (7,32 %) он находился в пределах от 0 до 3 баллов, соответствуя ремиссии; в 6 случаях (14,63 %) – в

пределах от 3 до 9 баллов, отражая легкую эндоскопическую активность; у большей части пациентов – 24 (58,54 %) – в пределах от 9 до 12 баллов, что соответствовало умеренной активности; в 9 случаях (21,95 %) эндоскопическая активность оказалась высокой (более 12 баллов).

По гистологической активности большая часть пациентов (28 человек – 68,3 %) соответствовала легкой или умеренной степени, оставшиеся 13 пациентов (31,7 %) имели активность 4–5 степени.

В процессе лечения у 10 пациентов (24,4 %) развилась стероидозависимость; у троих (7,3 %) – резистентность к кортикостероидам; 9 пациентов (21,9 %) имели в анамнезе операции, связанные с развитием стриктур, свищей, абсцессов.

Преобладающее число пациентов с БК имело внекишечные проявления заболевания. К числу последних, аутоиммунных, связанных с активностью БК, следует отнести артропатии, выявленные у 14 пациентов (34,15 %), поражение кожи в виде гангренозной пиодермии (1 пациент), слизистых в виде афтозного стоматита у двоих больных с БК (4,88 %). У ряда пациентов выявлены аутоиммунные патологии, не связанные с активностью БК, анкилозирующий спондилит (1 пациент), ревматоидный артрит (1 пациент). В 1 случае выявлен первичный склерозирующий холангит. Трое пациентов (7,32 %) наблюдались с псориазом.

Из внекишечных проявлений БК, обусловленных длительным воспалением и метаболическими нарушениями следует отметить холелитиаз – 2 пациента (4,88 %), стеатоз и стеатогепатит – 4 случая (9,76 %), тромбоз периферических вен и тромбэмолия легочной артерии – по одному пациенту (4,88 %).

Как и в группе пациентов с язвенным колитом, у большей части больных с БК – 31 человек (75,61 %) выявлена анемия, при этом в большей части случаев – анемия хронических заболеваний – 27 пациентов (65,85 %), у 4 больных (9,76 %) выявлена анемия смешанного генеза.

При оценке тяжести течения болезни Крона в целом в обследованной группе легкая тяжесть установлена в 7 случаях (17,1 %), средняя степень тяжести – у 26 пациентов (63,4 %) и тяжелое течение – у 8 больных (19,5 %).

Таким образом, в обследованной группе пациентов с болезнью Крона преобладали больные с хроническим рецидивирующим течением средней тяжести, инфильтративно-воспалительным фенотипическим вариантом заболевания, в стадии обострения с умеренно выраженной клинической, эндоскопической, гистологической активностью. Однако наличие у ряда пациентов пенетрирующей, стенозирующей форм заболевания, ассоциированных с развитием осложнений, развитие стероидозависимости, стероидорезистентности, наличие обострений с высокой активностью процесса в анамнезе, внекишечных проявлений обусловило наличие тяжелого течения заболевания в пятой части случаев. Как и в группе с ЯК, анемия оказалась одним из наиболее частых осложнений заболевания, однако преобладала анемия хронических заболеваний. Преимущественная локализация процесса в толстой кишке у большей части больных определяет актуальность дифференциальной диагностики с язвенным колитом.

Клиническая характеристика пациентов с БК представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Клиническая характеристика группы пациентов с болезнью Крона

Параметры	Пациенты с БК (n = 41)		
	Количество, n	% от группы с БК	% от всей группы с ВЗК
Характер течения			
острое	3	7,32	2,78
рецидивирующее	34	82,93	31,48
непрерывное	4	9,76	3,70
Фенотипические варианты БК			
инфильтративно-воспалительный	30	73,17	27,78

Параметры	Пациенты с БК (n = 41)		
	Количество, n	% от группы с БК	% от всей группы с ВЗК
стенозирующий	5	12,2	4,63
пенетрирующий	6	14,63	5,56
Локализация процесса			
илеоцекальный отдел	2	4,88	1,85
толстая кишка	27	65,85	25
терминальный илеит	9	21,95	8,33
сочетанные поражения разных отделов ЖКТ	3	7,32	2,78
Протяженность процесса			
локализованная БК	14	34,15	12,96
распространенная БК	26	63,41	24,07
Тяжесть заболевания			
легкая	7	17,1	6,42
умеренная	26	63,4	23,85
тяжелая	8	19,5	7,33
Клиническая активность			
минимальная	10	24,39	9,26
умеренная	26	63,41	24,07
высокая	4	9,76	3,7
Эндоскопическая активность (индекс CDEIS)			
0–3 балла (ремиссия)	3	7,32	2,78
3–9 баллов (легкая)	6	14,63	5,56
9–12 баллов (умеренная)	24	58,54	22,22
более 12 баллов (высокая)	9	21,95	8,33
Гистологическая активность			
1-я степень	1	2,44	0,93
2-я степень	13	31,71	12,04

Параметры	Пациенты с БК (n = 41)		
	Количество, n	% от группы с БК	% от всей группы с ВЗК
3-я степень	14	34,15	12,96
4-я степень	5	12,2	4,63
5-я степень	8	19,51	7,41
Индекс Беста			
менее 150 баллов (ремиссия)	7	17,1	6,48
более 150 баллов (обострение)	34	82,9	31,48
Стероидозависимость	10	24,39	9,26
Стероидорезистентность	3	7,32	2,78
Внекишечные проявления, аутоиммунные, связанные с активность БК			
артропатии	14	34,15	12,96
поражение кожи (гангренозной пиодермии)	1	2,44	0,93
поражение слизистых (афтозный стоматит)	2	4,88	1,85
Внекишечные проявления, аутоиммунные, не связанные с активность ЯК			
первичный склерозирующий холангит	1	2,44	0,93
анкилозирующий сакроилеит	1	2,44	0,93
ревматоидный артрит	1	2,44	0,93
остеопороз	1	2,44	0,93
псориаз	3	7,32	2,78
Обусловленные длительным воспалением и метаболическими нарушениями			
холелитиаз	2	4,88	1,85
стеатоз, стеатогепатит	4	9,76	3,7
тромбоз периферических вен	2	4,88	1,85
Анемия	31	75,61	28,44
анемия хронических заболеваний	27	65,85	25
анемия смешанного генеза	4	9,76	3,7

3.1.3 Клиническая характеристика пациентов с неклассифицируемым колитом

Среди обследованных с ВЗК 19 у человек, средний возраст (43,1 ± 11,6) года диагностирован неклассифицируемый колит, среди них было 10 женщин (52,6 %) и 9 мужчин (47,4 %). Большая часть пациентов – 14 человек (73,7 %) имели рецидивирующее течение заболевания, в 5 случаях (26,3 %) отмечено острое течение. Средний стаж патологии кишечника в группе составил (2,22 ± 1,76) года.

По протяженности поражения преобладали пациенты с дистальной локализацией колита – 6 человек (31,6 %) и левосторонним поражением – 6 пациентов (31,6 %), субтотальное поражение толстой кишки диагностировано в 5 случаях (26,3 %), у 2 пациентов выявлено тотальное поражение (10,5 %).

По тяжести заболевания у 9 пациентов группы (47,4 %) диагностирована легкая степень тяжести, оставшиеся имели среднетяжелое течение заболевания – 10 пациентов (52,6 %).

На момент первого обследования у 11 пациентов (57,9 %) выявлено обострение НКК, 8 человек (42,1 %) находились в состоянии ремиссии. В последующем (период от 0,5 до года) 5 пациента были обследованы в динамике (у них установлено наличие ремиссии заболевания). Таким образом, с учетом динамического наблюдения нам удалось оценить показатели в 11 случаях обострения и 13 случаях ремиссии НКК.

Поскольку клиническая, эндоскопическая, гистологическая активность могут различаться и не соответствовать друг другу, различные виды активности были проанализированы отдельно.

На момент первого обследования преобладали пациенты с минимальной – 13 человек (68,4 %) и умеренной – 5 пациентов (26,3 %) клинической активностью, лишь в 1 случае она оказалась высокой (5,3 %). У большей части обследованных с НКК выявлена умеренная и минимальная эндоскопическая активность – по 9 человек (47,4 %), в 1 случае она оказалась высокой (5,3 %).

При оценке тяжести настоящей атаки, согласно индексу активности Мейо, у 5 пациентов (26,3 %) сумма баллов не превышала 2, что соответствовало ремиссии; у 10 пациентов (52,6 %) находилось в пределах 3–5 баллов, что соответствовало легкой атаке НКК; у небольшой части больных – 4 (21,1 %) индекс находился в пределах от 6 до 9 баллов (среднетяжелая атака).

При оценке гистологической активности по шкале Гебса оказалось, что большая часть пациентов с НКК – 15 человек (78,9 %) имели 1–3 степени активности, у 4 пациентов (21,1 %) она соответствовала 4–5 степени.

Поскольку для оценки степени тяжести заболевания в целом следует учитывать тяжесть текущей атаки, наличие внекишечных проявлений, осложнений и рефрактерность к лечению, данные аспекты также были проанализированы в обследованной группе пациентов с НКК.

В группе пациентов с НКК случаев со стероидозависимостью и стероидорезистентностью не было выявлено.

Анализируя основные внекишечные проявления колита в группе обследованных пациентов с НКК, выяснилось, что аутоиммунные, связанные с активностью заболевания, диагностированы у отдельных пациентов: артропатии, поражение глаз (иридоциклит) выявлен у одного человека (5,56 %). Среди аутоиммунных патологий, не связанных с активностью колита, следует отметить первичный склерозирующий холангит, выявленный у одного пациента. В одном случае (5,56 %) диагностирован анкилозирующийсакроилеит. У ряда пациентов выявлены системные проявления, обусловленные длительным воспалением и метаболическими нарушениями: холелитиаз – у 1 пациента (5,56 %), стеатоз, стеатогепатит – у 5 больных (27,8 %), тромбоз периферических вен диагностирован у 1 больного (5,56 %). Следует заметить, что небольшая часть больных с НКК – 3 человека (16,7 %) имела анемию, преимущественно легкой степени тяжести (в 2 случаях – железодефицитная, у 1 пациента – смешанного генеза).

Принимая во внимание вышеперечисленные аспекты, в группе с НКК преобладали пациенты с легкой и средней тяжестью течения заболевания.

Клиническая характеристика пациентов с НКК представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Клиническая характеристика группы пациентов с неклассифицированным колитом

Параметры	Пациенты с НКК, (n = 18)		
	Количество, n	% от группы с НКК	% от всей группы с ВЗК
Характер течения			
острое	5	26,3	4,55
рецидивирующее	14	73,7	12,73
Протяженность процесса			
дистальный колит	6	31,6	5,45
левосторонний колит	6	31,6	5,45
субтотальный колит	5	26,3	4,55
тотальный колит	2	10,5	1,82
Тяжесть процесса			
легкая	9	47,4	8,18
умеренная	10	52,6	9,1
Клиническая активность			
минимальная	13	68,4	11,82
умеренная	5	26,3	4,55
высокая	1	5,3	0,91
Эндоскопическая активность			
минимальная	9	47,4	8,18
умеренная	9	47,4	8,18

Параметры	Пациенты с НКК, (n = 18)		
	Количество, n	% от группы с НКК	% от всей группы с ВЗК
высокая	1	5,3	0,91
Гистологическая активность			
1-я степень	4	21,1	3,64
2-я степень	6	31,6	5,45
3-я степень	5	26,3	4,55
4-я степень	1	5,3	0,91
5-я степень	3	15,8	2,75
Индекс Мейо			
0–2 балла (ремиссия)	5	26,3	4,55
3–5 баллов (легкая атака)	10	52,6	9,1
6–10 баллов (среднетяжелая атака)	4	21,1	3,64
Внекишечные проявления, аутоиммунные, связанные с активность НКК			
артропатии	1	5,3	0,91
поражение глаз (иридоциклит)	1	5,3	0,91
Внекишечные проявления, аутоиммунные, не связанные с активность НКК			
первичный склерозирующий холангит	1	5,3	0,91
анкилозирующий сакроилеит	1	5,3	0,91
Обусловленные длительным воспалением и метаболическими нарушениями			
холелитиаз	1	5,3	0,91
стеатоз, стеатогепатит	5	26,3	4,55
тромбоз периферических вен	1	5,3	0,91
Анемия	3	15,8	2,75
железодефицитная анемия	2	10,5	1,82

Параметры	Пациенты с НКК, (n = 18)		
	Количество, n	% от группы с НКК	% от всей группы с ВЗК
анемия смешанного генеза	1	5,3	0,91

Группы пациентов с разными вариантами ВЗК были сопоставимы по возрасту, полу, индексу массы тела, статусу курения (таблица 4). Во всех группах преобладали пациенты со стажем заболевания более 2 лет, рецидивирующим течением средней степени тяжести с умеренной клинической, эндоскопической активностью. Большая часть пациентов находилась в состоянии обострения заболевания. Преимущественная локализация процесса в толстой кишке при БК определила актуальность дифференциальной диагностики ВЗК. Пациенты с ЯК и БК оказались сопоставимы по проводимой терапии, в группе с НКК было меньшее число пациентов с применением иммуномодуляторов и кортикостероидов.

На момент обследования у 42 пациентов (84 %) с ЯК, 34 пациентов с БК (82,9 %) и 11 человек с НКК (57,9 %) выявлено обострение; 8 человек (16 %) с ЯК, 7 человек (17,1 %) с БК и 8 больных с НКК (42,1 %) находились в состоянии ремиссии.

Таблица 4 – Клиническая характеристика пациентов с ВЗК и обследуемых группы контроля (M ± SD)

Показатели	Группа контроля n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)
Возраст (лет)	43,3 ± 11,7	35,64 ± 11,03	38,64 ± 12,47	44,6 ± 13,6
Пол (мужчины/женщины)	25/28	21/29	18/23	9/10
Курение, чел. (%)	4 (7,5)	5 (10)	6 (14,6)	2 (10,5)

Показатели	Группа контроля n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)
Индекс массы тела (кг/м^2)	21,9 ± 2,4	20,9 ± 3,1	20,1 ± 3,9	22,0 ± 4,1
Длительность заболевания				
0,5–2 года	—	13 (26 %)	9 (21,9 %)	9 (47,4 %)*^
более 2 лет	—	37 (74 %)	32 (78,1 %)	10 (52,6 %)*^
Степень тяжести заболевания				
легкая	—	7 (14 %)	7 (17,1 %)	9 (47,4 %)*^
средняя	—	32 (64 %)	26 (63,4 %)	9 (52,6 %)
тяжелая	—	7 (14 %)	8 (19,5 %)	—
Характер течения заболевания				
острое	—	3(6 %)	3 (7,3 %)	5 (26,3 %)*^
рецидивирующее	—	43(86 %)	38 (92,6 %)	14 (73,7 %)*^
непрерывно	—	4(8 %)	4 (9,7 %)	—
обострение	—	42 (84 %)	34 (82,9 %)	11(57,9 %)*^
емиссия	—	8 (16 %)	7 (17,1 %)	8 (42,1 %)*^
Клиническая активность				
минимальная	—	15 (30 %)	10 (24,4 %)	13(68,4 %)*^
умеренная	—	32 (64 %)	26 (63,4 %)	5 (26,3 %)*^
высокая	—	3 (6 %)	4 (9,76 %)	1 (5,3 %)
Эндоскопическая активность				
минимальная	—	8 (16 %)	8 (19,5 %)	9 (47,4%)*^
умеренная	—	31 (62 %)	24 (58,5 %)	9 (47,4%)*^
высокая	—	11 (22 %)	9 (21,9 %)	1 (5,3 %)*^
Протяженность процесса				
дистальный колит	—	17 (34 %)	—	6 (31,6 %)

Показатели	Группа контроля n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)
левосторонний колит	—	17 (34 %)	—	6 (31,6 %)
субтотальный колит	—	3 (6 %)	—	5 (26,3 %)
тотальный колит	—	13 (26 %)	—	2 (10,5 %)
толстая кишка (включая прямую)	—	—	—	—
терминальный илеит	—	—	27 (65,8 %)	—
илеоцекальный отдел	—	—	9 (21,9 %)	—
сочетанное поражение	—	—	2 (4,9 %) 3 (7,32 %)	—
Стероидозависимость	—	12 (24 %)	10 (24,4 %)	—
Стероидорезистентность	—	—	3 (7,3 %)	—
Анемия				
железодефицитная	—	32 (64 %)	—	2 (10,5 %)*
воспалительных заболеваний	—	1 (2 %)	27(65,85 %)*	—
смешанного генеза	—	6 (12 %)	4 (9,76 %)	—
Терапия				
аминосалицилаты	—	48 (96 %)	37 (90,2 %)	16 (84,2 %)
иммуномодуляторы	—	24 (48 %)	20 (48,7 %)	4 (21,1 %)*^
кортикостероиды	—	27 (54 %)	21 (51,2 %)	5 (26,3 %)*^
Отсутствие терапии или лечение только препаратами 5-АСК на момент обследования в стадии обострения	—	22 (44 %)	20 (48,7 %)	10 (52,6 %)
Примечание: * – достоверность различий от группы пациентов с язвенным колитом, $p < 0,05$; ^ – достоверность различий от группы пациентов с болезнью Крона, $p < 0,05$.				

Из приведенной таблицы видно, что пациенты с НКК отличались более коротким анамнезом и относительно более легким течением процесса, что, вероятно, и затрудняло нозологическую диагностику.

Следует отметить, что наиболее частым внекишечным проявлением ВЗК оказалась анемия. При этом у большей части пациентов с ЯК и НКК выявлена железодефицитная анемия, а у больных с БК – анемия хронических воспалительных заболеваний.

3.2. Исследование показателей красной крови, обмена железа у пациентов с разными нозологическими формами воспалительных заболеваний кишечника

В обследованных группах проанализированы показатели красной крови, обмена железа и некоторые параметры общего анализа крови (таблица 5).

Таблица 5 – Показатели общего анализа крови, показатели обмена железа у пациентов с ВЗК и лиц группы контроля (M ± SD), (Me [25 %; 75 %])

Показатели	Группа контроля n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
Количество эритроцитов, $\times 10^{12}$/л	4,62 ± 0,38 5 [4;5]	4,19 ± 0,63 4 [4;4]	4,17 ± 0,55 4 [4;5]	4,33 ± 0,54 4 [4;5]	p_{1-2} 0,0006 p_{1-3} 0,0031	0,0004
Уровень гемоглобина, г/л	141,17 ± 8,73 [141 134;146]	122,57 ± 15,57 119,5 [112;134]	120,75 ± 18,02 121 [108;133]	128,45 ± 7,74 133 [126;136]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,003 p_{2-4} 0,019 p_{3-4} 0,0147	0,00001
Цветовой показатель	0,93 ± 0,03 0,95 [0,92;0,97]	0,88 ± 0,06 0,84 [0,82;0,90]	0,88 ± 0,07 0,86 [0,85;0,93]	0,90 ± 0,04 0,92 [0,90;0,95]	p > 0,1	1,0

Показатели	Группа контроля n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
СОЭ, мм/ч	8,85 ± 3,96 9 [6;11]	19,86 ± 9,57 21 [13;26]	22,51 ± 12,69 24 [12;34]	18,36 ± 6,27 15 [7;23]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,0096 p_{3-4} 0,022	0,00001
Количество тромбоцитов, $\times 10^9$/л	228,89 ± 33,05 226 [206;254]	130,73 ±114,98 296,5 [226;366]	313,83 ±133,48 311 [226;357]	324,36 ± 99,19 281 [223;339]	p_{1-2} 0,00002 p_{1-3} 0,00009 p_{1-4} 0,0011	0,00001
Количество лейкоцитов, $\times 10^9$/л	$5{,}94\cdot10^{-6}$ $\pm 1{,}42\cdot10^{-6}$ 6 [5;7]	$7{,}0\cdot10^{-6}$ $\pm 3{,}0\cdot10^{-6}$ 6,5 [5;9]	$7{,}33\cdot10^{-6}$ $\pm 2{,}6\cdot10^{-6}$ 7 [5;9]	$7{,}52\cdot10^{-6}$ $\pm 2{,}01\cdot10^{-6}$ 7 [5;9]	p_{1-3} 0,0083	0,516
Гематокрит, %	42,94 ± 2,62 43 [42;45]	38,25 ± 8,02 39 [37,5;42]	39,06 ± 5,23 40 [37;43]	40,96 ± 2,57 42 [40;43]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00009 p_{2-4} 0,02 p_{3-4} 0,09	0,00001
Средний корпуску-лярный объем эритроцита MCV, fl	91,59 ± 2,95 92 [90;94]	82,92 ± 6,83 80 [78;91]	85,9 ± 6,02 84 [82;92,5]	86,15 ± 6,42 88 [81;94]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00002 p_{2-4} 0,016 p_{3-4} 0,007	0,00001
Среднее содержание гемоглобина в эритроците MCH, пг	30,84 ± 2,07 31 [29;33]	28,01 ± 2,9 27 [26;30]	29,01 ± 3,28 28,5 [27,32]	29,98 ± 2,34 31 [29;34]	p_{1-2} 0,00005 p_{1-3} 0,0114 p_{2-3} 0,098 p_{2-4} 0,0022 p_{3-4} 0,08	0,00001
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах MCHC, г/л	339,82 ± 11,44 340 [335;348]	313,31 ± 18,41 309 [301;324]	319,41 ± 20,91 322 [309,5;336]	329,55 ± 20,57 340,5 [319;352]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00053 p_{2-3} 0,025 p_{2-4} 0,003	0,00001

Показатели	Группа контроля n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
					p_{3-4} 0,027	
Железо сыворотки, мкмоль/л	16,03 ± 9,75 15 [13;21]	8,98 ± 5,3 8 [6;11]	10,31 ± 6,96 8 [5;13]	13,06 ± 3,61 15 [11;17]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{2-4} 0,00026 p_{2-3} 0,098 p_{3-4} 0,0032	0,00001
Ферритин, мкг/л	91,31 ± 59,93 68 [46,5;129]	42,37 ± 56,45 25 [11;45]	53,86 ± 46,73 40 [19;80]	141,29 ± 188,29 87 [34;169]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,0029 p_{2-4} 0,0006 p_{3-4} 0,0169	0,00001
Трансферрин, г/л	4,75 ± 6,59 4 [3;4]	2,74 ± 0,88 2 [2;4]	3,16 ± 4,89 3 [2;3]	2,69 ± 0,86 3 [2;3]	p_{1-2} 0,00089 p_{1-3} 0,00006 p_{1-4} 0,016	0,0003
Коэффициент насыщения трансферрина железом, %	33,23 ± 6,68 33 [28;40]	17,72 ± 9,9 16 [13;22,5]	18,51 ± 9,73 17 [13;24]	31,43 ± 10,24 32 [27;33]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{2-3} 0,00013 p_{3-4} 0,00032	0,00001
С-реактивный белок, мг/л	2,33 ± 0,86 2 [2;3]	8,47 ± 8,43 5 [3;16]	16,24 ± 21,71 14 [6;28]	5,26 ± 2,70 5 [4;6]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-3} 0,00005 p_{2-3} 0,00108 p_{3-4} 0,0012	0,00001

Количество эритроцитов оказалось ниже у пациентов с ЯК (p = 0,0006) и БК (p = 0,0031), чем в группе контроля. Уровень гемоглобина во всех группах с ВЗК был ниже такового у лиц группы контроля, при этом данный показатель ниже у больных с ЯК и БК, чем при НКК (p = 0,019 и p = 0,0147 соответственно). Разница

в уровне цветового показателя уровня достоверности не достигала, по сравнению с контролем при общем тренде к снижению у пациентов с ВЗК. СОЭ при наличии патологии кишечника была достоверно выше, чем у лиц контрольной группы ($p = 0,00001–0,003$), причем у больных с БК данный показатель оказался также выше, чем в случаях с НКК ($p = 0,022$).

Уровень гематокрита у пациентов с ВЗК был ниже, чем в контроле, с достоверными различиями для ЯК ($p < 0,00001$) и БК ($p = 0,0009$). При ЯК этот показатель был ниже, чем при НКК ($p = 0,02$).

Средний корпускулярный объем эритроцита продемонстрировал общую тенденцию к снижению у пациентов с ВЗК по сравнению с лицами группы контроля, различаясь достоверно у лиц с ЯК ($p < 0,00001$) и БК ($p = 0,00002$). СОЭ оказался выше у пациентов с НКК по сравнению с таковым при ЯК ($p = 0,016$) и БК ($p = 0,007$).

Отмечено снижение среднего содержания гемоглобина в отдельном эритроците при ЯК ($p = 0,00005$) и БК ($p = 0,0114$) по сравнению с лицами группы контроля. У пациентов с ЯК он также оказался ниже такового при НКК ($p = 0,022$).

Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (МСНС) во всех группах пациентов с ВЗК была ниже этого показателя у лиц контрольной группы (для ЯК и БК $p < 0,00001$, для НКК $p = 0,00053$). МСНС у больных с язвенным колитом был ниже значения параметра у больных с БК ($p = 0,025$) и НКК ($p = 0,003$), а при болезни Крона – ниже, чем при НКК ($p = 0,027$).

Содержание железа сыворотки крови при общем тренде к снижению у больных с ВЗК, по сравнению с контролем, достигало минимальных значений у пациентов с ЯК ($p < 0,00001$), достоверно отличаясь от уровня такового при НКК ($p = 0,00026$).

Уровень ферритина в группах с ЯК и БК был ниже, а при НКК – выше, чем в контроле ($p < 0,00001$ для ЯК, $p = 0,0029$ для БК). Данный показатель у пациентов с НКК оказался выше, чем у лиц с ЯК ($p = 0,0006$) и БК ($p = 0,0169$).

Выявлено снижение значений трансферрина при наличии воспалительных заболеваний кишечника по сравнению с контролем (для ЯК p = 0,00089, для БК p = 0,00006, для НКК p = 0,016), а также снижение индекса насыщения трансферрина железом, который достиг минимальных цифр при ЯК, отличаясь от лиц группы контроля (p < 0,00001) и пациентов с НКК (p = 0,00013).

У пациентов с ВЗК отмечена тенденция к увеличению количества лейкоцитов по сравнению с группой контроля, но достоверно выше этот показатель оказался лишь в группе с БК (p = 0,0083).

Количество тромбоцитов у больных с ЯК было ниже, чем в контроле (p = 0,00002), а при БК и НКК – выше (p = 0,00009 и p = 0,0011 соответственно).

С-реактивный белок оказался повышенным в группах с ВЗК, достигнув максимальных цифр при БК с достоверными отличиями от лиц контрольной группы (p < 0,00001), пациентов с ЯК (p = 0,00108) и НКК (p = 0,0012).

Таким образом, исследование показателей красной крови, параметров обмена железа и некоторых маркеров воспаления в группах с разными вариантами ВЗК свидетельствует о наличии анемии у значительной части обследованных. Различные уровни показателей обмена железа и маркеров воспаления в группах с разными нозологическими формами ВЗК дают возможность предположить различный генез анемии – преобладание железодефицитной анемии и латентного дефицита железа у пациентов с ЯК и анемии воспалительных заболеваний у лиц с БК.

3.2.1 Исследование биохимических показателей у пациентов с разными нозологическими формами воспалительных заболеваний кишечника

У пациентов обследованных групп проанализированы основные биохимические параметры (таблица 6).

Таблица 6 – Биохимические показатели у пациентов с ВЗК и лиц группы контроля (M ± SD), (Me [25 %; 75 %])

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
Общий холестерин, ммоль/л	4,61 ± 0,65 5 [4;5]	4,22 ± 0,92 4 [4;5]	4,42 ± 1,30 4 [4;5]	4,75 ± 1,09 5 [3;6]	p_{1-2} 0,018	0,097
Холестерин ЛПВП, ммоль/л	1,47 ± 0,32 2 [1;2]	1,06 ± 0,39 1 [1;1]	1,26 ± 0,39 1 [1;2]	1,16 ± 0,32 1 [1;1]	p_{1-2} 0,00021 p_{1-3} 0,031 p_{1-4} 0,07	0,00001
Холестерин ЛПНП, ммоль/л	2,50 ± 0,33 3 [2;3]	2,66 ± 0,80 3 [2;3]	2,72 ± 1,04 3 [2;3]	2,92 ± 0,81 3 [2;4]	p > 0,1	0,6739
Триглицериды ммоль/л	1,67 ± 0,56 2 [1;2]	1,92 ± 0,87 2 [1;2]	1,74 ± 0,78 2 [1;2]	1,75 ± 0,41 2 [2;2]	p > 0,1	0,5961
Глюкоза крови натощак, ммоль/л	5,26 ± 0,53 5 [5;6]	4,81 ± 0,93 5 [4;5]	4,84 ± 0,66 5 [4;5]	5,14 ± 1,02 5 [4;6]	p_{1-2} 0,0126 p_{1-3} 0,023	0,0206
Общий белок, г/л	73,86 ± 4,52 74 [72;76]	70,47 ± 5,11 70 [67;73]	69,92 ± 5,55 70 [67;73]	70,18 ± 3,84 70,5 [68;73]	p_{1-2} 0,00006 p_{1-3} 0,00014 p_{1-4} 0,0207	0,0001
Альбумин, г/л	45,08 ± 2,69 46 [43;47]	43,28± 3,27 44 [40;46]	41,76± 4,79 42 [39;45]	42,27 ± 2,65 43 [40;46]	p_{1-2} 0,018 p_{1-3} 0,00097 p_{1-4} 0,028	0,0052
Фибриноген, г/л	2,57 ± 0,56 3 [2;3]	4,12 ± 1,17 4 [3;5]	5,76 ± 2,19 6 [4;7]	4,93 ± 0,88 5 [4;5]	p_{1-2} 0,00002 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00015 p_{2-3} 0,0002 p_{3-4} 0,067	0,00001
АЛТ, Ед/л	17,49 ± 5,23 17 [14;21]	16,68 ± 9,8 15 [11;19]	18,41 ± 15,46 15,5 [11;21]	18,66 ± 8,79 16 [13;22]	p > 0,1	0,3859

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
АСТ, Ед/л	18,40 ± 4,3 18 [16;21]	19,62 ± 6,23 18 [15;21]	19,54 ± 17,95 17 [14;20]	19,09 ± 5,07 17,5 [16;22]	p > 0,1	0,5324
ГГТП, Ед/л	22,32 ± 10,7 20[15;31]	24,0 ± 16,73 20[17;30]	21,32 ± 8,7 20[14;29]	27,78 ± 9,64 25[18;34]	p_{1-4} 0,05 p_{2-4} 0,08 p_{3-4} 0,039	0,161
ЩФ, Ед/л	128,55 ± 42,9 111[102;152]	102,21 ± 50,1 9 135,5[117;159]	103,18 ± 53,89 92[66;115]	144 ± 39,61 87[69,5;140,5]	p_{1-2} 0,0012 p_{1-3} 0,03 p_{2-4} 0,0003 p_{3-4} 0,014	0,0004
АМК, Ед/л	68,25 ± 15,36	96,16 ± 43,22	79,82 ± 49,7	79,38 ± 28,10	p > 0,1	0,5974
Общий билирубин, мкмоль/л	11,41 ± 3,66 12 [8;14]	8,61 ± 4,83 9 [7;11]	11,61 ± 8,03 9 [7;15]	11,36 ± 4,49 12 [9;16]	p_{1-2} 0,0121 p_{2-4} 0,05	0,0603
Прямой билирубин, мкмоль/л	3,24 ± 1,94 3 [2;4]	3,16 ± 2,15 3 [2;4]	4,23 ± 2,5 4 [3;5]	3,53 ± 0,92 4 [2,5;4,5]	p_{1-3} 0,05 p_{2-3} 0,012 p_{2-4} 0,08	0,029
Непрямой билирубин, мкмоль/л	8,48 ± 3,44 8 [6;11]	5,89 ± 4,15 5 [4;8]	7,53 ± 6,78 5,5 [3,5;9,5]	8,49 ± 3,77 9,5 [5,5;11]	p_{1-2} 0,0148 p_{1-3} 0,06 p_{2-4} 0,05	0,042
Мочевая кислота, мг/дл	286,73 ± 77,47 272 [239;317,5]	255,73 ± 54,89 254,5 [209;301]	269,33 ± 56,41 260 [226;313]	271,0 ± 51,87 287 [237;314]	p_{1-2} 0,05	0,2559
Креатинин, мкмоль/л	79,78 ± 11,07 79 [70;88]	70,16 ± 15,10 71 [62;80]	75,3 ± 14,10 74 [67;89]	77,0 ± 6,9 76,5 [72;80]	p_{1-2} 0,0013 p_{2-4} 0,05 p_{3-4} 0,07	0,0121
Мочевина, ммоль/л	4,73 ± 1,0 5 [4;5]	4,15 ± 1,16 4 [3;5]	4,61 ± 1,85 4 [3;5]	5,20 ± 2,03 5 [4;5]	p_{1-2} 0,0047 p_{2-4} 0,05	0,0216

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
Натрий крови, ммоль/л	142,2 ± 1,10 142 [142;142]	139,45 ± 3,07 140 [138;141]	140,04 ± 2,83 141 [138;142]	142,4 ± 1,52 142,5 [140;143]	p_{1-2} 0,017 p_{2-4} 0,042	0,0409
Калий крови, ммоль/л	4,22 ± 0,08 4 [4;4]	4,28 ± 0,63 4 [4;5]	4,25 ± 0,55 4 [4;5]	4,15 ± 0,37 4 [4;5]	p > 0,1	0,5561
Кальций крови, ммоль/л	2,28 ± 0,06	2,33 ± 0,09	2,35 ± 0,14	2,26 ± 0,06	p > 0,1	0,6374
Фекальный кальпротектин мкг/г	23,87 ± 10,6 23 [23;23]	198,72 ± 213,38 168 [52;300]	556,28 ± 152 249 [59;425]	121,62 ± 71,03 81 [65;114]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,047 p_{2-4} 0,001 p_{3-4} 0,027	0,00001

При рассмотрении липидного профиля выявлен более низкий уровень общего холестерина у пациентов с ЯК по сравнению с контролем (p = 0,018). Уровень ХС ЛПВП оказался ниже у пациентов с ЯК и БК, чем у лиц группы контроля (p = 0,00021 и p = 0,031 соответственно), с той же тенденцией для НКК (p = 0,07). По уровням ХС ЛПНП, триглицеридов группы были сопоставимы.

Отмечен более низкий уровень глюкозы крови натощак при ЯК и БК по сравнению с группой контроля (p = 0,0126 и p = 0,023 соответственно).

Уровень общего белка оказался достоверно ниже у пациентов с ВЗК по сравнению с лицами контрольной группы (p = 0,00006–0,02), как и уровень альбумина (p = 0,00097–0,028), при это минимальные значения показателя отмечены у пациентов с БК.

Величина показателя фибриногена напротив, была выше у пациентов с патологией кишечника, чем в контроле ($p = 0,00002$ для БК, $p = 0,0002$ для ЯК, $p = 0,067$ для НКК), причем у пациентов с болезнью Крона этот показатель достигал максимальных значений.

Активности ряда ферментов – аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), гамма-глютамилтранспептидаза (ГГТП), амилазы крови – в обследованных группах не различались. Активность щелочной фосфатазы оказалась достоверно ниже у пациентов с ЯК ($p = 0,0012$) и БК ($p = 0,03$), чем у лиц в контроле, в то время как у пациентов с НКК этот параметр был выше, чем в группе с ЯК ($p = 0,0003$) и БК ($p = 0,014$).

Выявлен более низкий уровень общего билирубина у больных с язвенным колитом, чем у лиц контрольной группы ($p = 0,012$) и пациентов с НКК ($p < 0,05$). Вместе с тем, уровень прямого билирубина был достоверно выше при БК, чем в контрольной группе ($p < 0,05$) и в группе с ЯК ($p = 0,012$). Сниженное содержание непрямого билирубина отличало пациентов с ЯК от лиц группы контроля ($p = 0,0148$) и НКК ($p < 0,05$).

Уровни креатинина, мочевины, мочевой кислоты оказались достоверно ниже у пациентов с ЯК, чем у лиц контрольной группы и пациентов с НКК ($p < 0,05$). Та же закономерность прослежена для величины натрия крови ($p = 0,017$ – ЯК против контроля; $p = 0,042$ – ЯК против НКК).

По уровню калия и кальция крови различий между группами выявлено не было.

Уровень фекального кальпротектина у пациентов с ВЗК всех групп оказался достоверно выше, чем у лиц контрольной группы, при этом максимальные значения показателя отмечены при БК (выше, чем в группе с ЯК ($p = 0,047$) и с НКК ($p < 0,05$)).

Таким образом, у пациентов с ВЗК выявлены различия в уровнях ряда биохимических показателей по сравнению с лицами контрольной группы и в группах с различными нозологическими формами ВЗК. Вместе с тем следует

отметить, что большая часть параметров находилась в пределах референтных значений. Исключение составили уровни фибриногена и фекального кальпротектина, являющиеся маркерами воспаления, степень которого была наиболее выраженной у пациентов с болезнью Крона.

3.2.2 Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными нозологическими формами воспалительных заболеваний кишечника

В обследованных группах были изучены электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов (таблица 7).

Таблица 7 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с ВЗК и обследуемых группы контроля (M ± SD), (Me [25 %; 75 %])

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
Средний диаметр эритроцита, мкм	7,54 ± 0,07 7.52 [7,48; 7,56]	7,42 ± 0,05 7,40 [7,22; 7,46]	7,48 ± 0,04 7,46 [7,40; 7,50]	7,50 ± 0,06 7,50 [7,48; 7,52]	p_{1-2} 0,05	0,0471
Доля дискоцитов, %	74,3 ± 8,19 73 [70;81]	57,74 ± 18,48 64 [39;71]	55,87 ± 17,83 61 [38;68]	61,39 ± 18,89 65 [38;71]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00033	0,00001
Доля сфероцитов, %	18,83 ± 6,64 18 [13;23]	36,09 ± 18,41 34 [22;53]	38,79 ± 18,11 33,5 [23;57]	33,28 ± 19,38 32 [24;53]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00008	0,00001
Доля деформ. клеток, %	19,98 ± 7,34 18 [16;25]	55,34 ± 19,33 66 [40;72]	55,3 ± 20,0 65 [49;70]	57,75 ± 17,24 59 [38;70]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001	0,00001

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
Измененный характер поверхности Er, усл. коэффициент	1,08 ± 0,27 1 [1;1]	1,62 ± 0,49 2 [1;2]	1,75 ± 0,43 2 [2;2]	1,5 ± 0,51 2 [1;2]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001	0,00001
Амплитуда деформации на частоте 10^6 Гц, м	$8{,}15\cdot10^{-6}$ ± $0{,}65\cdot10^{-6}$ 8 [8;9]	$6{,}28\cdot10^{-6}$ ± $0{,}57\cdot10^{-6}$ 6 [6;7]	$6{,}27\cdot10^{-6}$ ± $0{,}46\cdot10^{-6}$ 6 [6;7]	$6{,}26\cdot10^{-6}$ ± $0{,}59\cdot10^{-6}$ 6 [6;6]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001	0,00001
Степень изменения амплитуды деформации на частоте $0{,}5 \times 10^6$ Гц, %	75,38 ± 7,17 75 [69;81]	52,0 ± 11,63 53 [42;61]	51,42 ± 9,74 52,5 [43;57]	54,61 ± 13,68 54 [42;58]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001	0,00001
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	$6{,}49\cdot10^{-6}$ ± $0{,}9\cdot10^{-6}$ 7 [6;7]	$9{,}34\cdot10^{-6}$ ± $0{,}57\cdot10^{-6}$ 9 [9;10]	$9{,}42\cdot10^{-6}$ ± $0{,}51\cdot10^{-6}$ 9 [9;10]	$9{,}30\cdot10^{-6}$ ± $0{,}79\cdot10^{-6}$ 10 [9;10]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{3-4} 0,03	0,00001
Обобщенный показатель вязкости, Па с	0,57 ± 0,07 6 [5;6]	0,735 ± 0,035 7 [7;8]	0,732 ± 0,034 7 [7;8]	0,731 ± 0,040 7 [7;8]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001	0,00001
Индекс агрегации Er, усл. коэффициент	0,40 ± 0,2 0 [0;0]	0,70 ± 0,1 0 [0;0]	0,80 ± 0,7 0 [0;0]	0,60 ± 0,2 0 [0;0]	p > 0,1	0,6951

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
Индекс деструкции Er при 10^6 Гц, %	0,11 ± 0,45 0 [0;0]	0,46 ± 1,26 0 [0;0]	0,77 ± 1,04 0 [0;0]	0,23 ± 0,73 0 [0;2]	p_{1-3} 0,05	0,0389
Индекс деструкции Er при $0,5 \times 10^6$ Гц, %	0,11 ± 0,34 0 [0;0]	0,47 ± 1,2 0 [0;0]	0,74 ± 1,11 0 [0;0]	0,22 ± 0,72 0 [0;2]	p_{1-3} 0,05	0,0439
Индекс деструкции Er при $0,1 \times 10^6$ Гц, %	0,04 ± 0,3 0 [0;0]	0,63 ± 1,49 0 [0;0]	0,65 ± 1,14 0 [0;0]	0,19 ± 0,555 0 [0;2]	p_{1-3} 0,014	0,0015
Индекс деструкции Er при $0,5 \times 10^5$ Гц, %	0,02 ± 0,1 0 [0;0]	0,57 ± 1,47 0 [0;0]	0,72 ± 1,81 0 [0;0]	0,53 ± 1,64 0 [0;0]	$p > 0,1$	0,0441
Поляризуемость на частоте 10^6 Гц, $м^3$	$6,58 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,07 \cdot 10^{-15}$ 6 [5;8]	$5,03 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,83 \cdot 10^{-15}$ 4 [3;6]	$4,90 \cdot 10^{-15}$ $\pm 1,99 \cdot 10^{-15}$ 4,5 [3;6]	$3,78 \cdot 10^{-15}$ $\pm 1,58 \cdot 10^{-15}$ 3 [2;4]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,0002 p_{1-4} 0,00001 p_{3-4} 0,03	0,00001
Поляризуемость на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, $м^3$	$4,76 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,35 \cdot 10^{-15}$ 4[3;6]	$4,96 \cdot 10^{-15}$ $\pm 3,1 \cdot 10^{-15}$ 4[2;6]	$4,63 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,57 \cdot 10^{-15}$ 4[3;6]	$3,70 \cdot 10^{-15}$ $\pm 1,94 \cdot 10^{-15}$ 3[2;5]	$p > 0,1$	0,6
Поляризуемость на частоте $0,1 \times 10^6$ Гц, $м^3$	$-3,59 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,59 \cdot 10^{-15}$ 2 [2;5]	$-4,84 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,4 \cdot 10^{-15}$ 4 [3;5]	$-4,73 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,56 \cdot 10^{-15}$ 4 [3;6]	$-3,23 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,09 \cdot 10^{-15}$ 3 [2;4]	p_{1-2} 0,019 p_{1-3} 0,0018 p_{2-4} 0,004 p_{3-4} 0,05	0,0020

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК n = 50 (2)	Группа пациентов с БК n = 41 (3)	Группа пациентов с НКК n = 19 (4)	Критерий Манна-Уитни p	Критерий Краскела-Уоллиса p
Поляризуемость на частоте $0{,}05 \times 10^6$ Гц, $м^3$	$-4{,}95 \cdot 10^{-15} \pm 2{,}12 \cdot 10^{-15}$ 4 [4;6]	$-4{,}56 \cdot 10^{-15} \pm 3{,}36 \cdot 10^{-15}$ 4 [3;5]	$-4{,}18 \cdot 10^{-15} \pm 1{,}9 \cdot 10^{-15}$ 3 [2;5]	$-3{,}09 \cdot 10^{-15} \pm 1{,}88 \cdot 10^{-15}$ 3 [1;4]	p_{1-2} 0,02 p_{1-3} 0,004 p_{1-4} 0,0003 p_{2-4} 0,038 p_{3-4} 0,05	0,0006
Относит. поляризуемость	0,93 ± 0,33 1 [1;1]	1,24 ± 0,72 1 [1;2]	1,12 ± 0,51 1 [1;1]	1,37 ± 0,71 1 [1;2]	p > 0,1	0,09
Электропроводность, см/м	$5{,}1 \cdot 10^{-5} \pm 0{,}54 \cdot 10^{-5}$ 5 [5;5]	$7{,}29 \cdot 10^{-5} \pm 1{,}02 \cdot 10^{-5}$ 7 [6;9]	$7{,}48 \cdot 10^{-5} \pm 1{,}38 \cdot 10^{-5}$ 7 [6;9]	$6{,}51 \cdot 10^{-5} \pm 1{,}04 \cdot 10^{-5}$ 6 [6;7]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-4} 0,05 p_{3-4} 0,03	0,00001
Емкость клеточной мембраны, Ф	$7{,}26 \cdot 10^{-14} \pm 0{,}53 \cdot 10^{-14}$ 7 [7;8]	$5{,}37 \cdot 10^{-14} \pm 3{,}53 \cdot 10^{-14}$ 6 [2;8]	$5{,}27 \cdot 10^{-14} \pm 3{,}47 \cdot 10^{-14}$ 5,5 [3;7]	$5{,}54 \cdot 10^{-14} \pm 2{,}81 \cdot 10^{-14}$ 5 [3;8]	p_{1-2} 0,0008 p_{1-3} 0,0002 p_{1-4} 0,013	0,0004
Скорость движения Er к электродам, мкм/с	7,75 ± 1,07 8 [7;8]	4,06 ± 0,99 4 [3;5]	3,85 ± 0,9 4 [3;5]	4,01 ± 0,93 4 [3;5]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001	0,00001
Равновесная частота, Гц	$0{,}49 \cdot 10^6 \pm 0{,}07 \cdot 10^6$ 1 [0;1]	$1{,}01 \cdot 10^6 \pm 1{,}54 \cdot 10^6$ 1 [0;1]	$0{,}92 \cdot 10^6 \pm 0{,}94 \cdot 10^6$ 0,5 [0;1]	$0{,}88 \cdot 10^6 \pm 1{,}14 \cdot 10^6$ 1 [0;1]	p > 0,1	0,7685
Дипольный момент, Кл/м	$7{,}59 \cdot 10^{-21} \pm 0{,}99 \cdot 10^{-21}$ 8 [7;8]	$4{,}70 \cdot 10^{-21} \pm 1{,}22 \cdot 10^{-21}$ 5 [4;5]	$4{,}44 \cdot 10^{-21} \pm 1{,}07 \cdot 10^{-21}$ 4 [4;5]	$4{,}83 \cdot 10^{-21} \pm 1{,}53 \cdot 10^{-21}$ 4 [4;5]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001	0,00001

Пациенты с ВЗК, особенно с ЯК ($p < 0{,}05$), отличались от лиц группы контроля меньшим диаметром эритроцитов. При этом у пациентов с

заболеваниями кишечника, по сравнению с лицами контрольной группы, отмечено снижение доли дискоцитов при увеличении сфероцитов и доли деформированных эритроцитов с измененным характером поверхности. Наиболее измененными оказались эритроциты у пациентов с болезнью Крона.

Клетки пациентов с ВЗК по сравнению с контрольной группой имели сниженную деформабельность на высоких частотах, в то время как обобщенные показатели вязкости и жесткости клеток при патологии кишечника оказались выше, чем в группе контроля ($p < 0,00001$). Пациенты с болезнью Крона имели наиболее высокую обобщенную жесткость клеток, достоверно отличаясь от группы с НКК ($p = 0,03$).

Клетки красной крови пациентов с ВЗК имели склонность к образованию агрегатов, наиболее выраженную при БК, однако степени достоверности различия не достигали.

При ВЗК отмечена тенденция к повышению индекса деструкции эритроцитов на всех частотах электрического поля по сравнению с лицами контрольной группы, при этом у пациентов с БК гемолиз клеток красной крови на высоких (10^6; ($0,5 \times 10^6$) Гц) и низких (10^5 Гц) частотах достигал максимальных значений с достоверными отличиями от группы контроля ($p = 0,014–0,05$).

На высоких частотах электрического поля (10^6; ($0,5 \times 10^6$) Гц) и низкой частоте (10^5 Гц) поляризуемость эритроцитов у пациентов с ВЗК оказалась ниже, а значения поляризуемости на низкой частоте ($0,5 \times 10^5$ Гц) и величина относительной поляризуемости – выше, чем в группе контроля ($p = 0,00001–0,02$). Следует отметить различия между группами с ВЗК по показателю поляризуемости на разных частотах: на частоте 10^6 Гц у пациентов с НКК она оказалась минимальной, достоверно отличаясь по значению от такового при болезни Крона ($p = 0,03$). Напротив, на низких частотах (10^5; ($0,5 \times 10^4$) Гц) данный показатель оказался выше при НКК, чем величины поляризуемости при ЯК ($p = 0,004$) и при БК ($p < 0,05$).

Электропроводность мембран эритроцитов оказалась выше у пациентов с ВЗК во всех группах по сравнению с контролем, достигнув максимальных значений при БК ($p < 0,00001$). Вместе с тем, при НКК этот показатель был ниже, чем у больных с ЯК ($p < 0,05$) и БК ($p = 0,03$).

Клетки красной крови пациентов с ВЗК имели более низкие уровни емкости мембран, чем лица группы контроля ($p = 0,0008–0,013$). Следует отметить, что у больных с БК емкость мембран была ниже, чем при ЯК и НКК, не достигая, однако, уровня достоверности.

Скорость движения эритроцитов к электродам у пациентов с ВЗК была достоверно ниже, чем у лиц контрольной группы ($p < 0,00001$), достигая минимальных значений при БК по сравнению с пациентами с ЯК и НКК. Та же тенденция отмечена в отношении уровня дипольного момента: более низкие уровни при ВЗК, наиболее низкие значения при БК.

Равновесная частота – это частота неоднородного переменного электрического поля, на которой электрическая проводимость клетки совпадает с проводимостью окружающей клетку среды. Смещение данного показателя в низко- и высокочастотные диапазоны свидетельствует о выраженных изменениях структуры мембран (например, появление пор, электрических пробоев) и состава электролитов внутри клеток [7]. Равновесная частота у пациентов с ВЗК оказалась смещенной в высокочастотный диапазон, в большей степени у пациентов с ЯК (в виде тенденции).

Таким образом, эритроциты пациентов с ВЗК отличались от эритроцитов лиц контрольной группы более низкими уровнями диаметра клеток, увеличением количества сфероцитарных, деформированных форм клеток с измененной поверхностью при снижении доли дискоцитов. Амплитуда деформации клеток на высоких частотах у больных с ВЗК оказалась ниже на фоне повышенных обобщенных показателей вязкости и жесткости. У пациентов с ВЗК эритроциты имели склонность к образованию агрегатов и деструкции на разных частотах электрического поля. Поляризуемость на высоких частотах (1×10^6); ($0,5 \times 10^6$) Гц

и на частоте 10^5 Гц оказалась ниже, а на частоте $(0,5 \times 10^4)$ Гц и относительная поляризуемость – выше при наличии воспалительных заболеваний кишечника по сравнению с группой контроля. Эритроциты пациентов с ВЗК имели более высокие уровни электропроводности и более низкие – емкости мембран, скорости движения к электродам, дипольного момента, чем в контроле. Равновесная частота у пациентов с ВЗК оказалась смещенной в высокочастотный диапазон.

Выявлены показатели, значимые для различения пациентов с разными вариантами ВЗК. Эритроциты пациентов с БК имели более высокую обобщенную жесткость, чем у пациентов с НКК. При БК клетки оказались более склонными к гемолизу, имели более высокие уровни электропроводности, тенденцию к более низким значениям скорости движения к электродам, дипольного момента. Эритроциты пациентов с НКК отличались более низкими значениями поляризуемости на высоких частотах (10^6; $(0,5 \times 10^6)$ Гц) и более высокими – на низких частотах ((1×10^5); $(0,5 \times 10^4)$ Гц) по сравнению с ЯК и БК. Больные с ЯК обнаружили тренд к снижению диаметра клеток, большего смещения равновесной частоты в высокочастотный диапазон по сравнению с другими группами.

3.2.3 Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными нозологическими формами воспалительных заболеваний кишечника с учетом проводимой терапии

По данным литературы, проводимая терапия иммуномодуляторами, кортикостероидами оказывает выраженное влияние на состояние клеток красной крови [97; 242; 246], в отличие от препаратов 5-АСК, существенно не меняющих свойств эритроцитов. Поэтому отдельно были проанализированы электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов в группах пациентов, которые на момент обследования находились в стадии обострения до начала терапии какими-либо препаратами или принимали только препараты 5-аминосалициловой кислоты

(таблица 8). В группе пациентов с ЯК их оказалось 22 человека (44 %), с БК – 20 (48,7 %), с НКК – 10 больных (52,6 %).

Таблица 8 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с ВЗК в стадии обострения до начала терапии или на фоне терапии препаратами 5-АСК и обследуемых группы контроля (M ± SD) (Me [25 %; 75 %])

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК, обострение n = 22 (2)	Группа пациентов с БК, обострение n = 20 (3)	Группа пациентов с НКК, обострение n = 10 (4)	Критерий Манна-Уитни p
Средний диаметр эритроцита, мкм	7,54 ± 0,07 7,52 [7,48; 7,56]	7,42 ± 0,04 7,38 [7,16;7,40]	7,48 ± 0,05 7,46 [7,34; 7,48]	7,50 ± 0,04 7,48 [7,40; 7,50]	p_{1-2}0,05
Доля дискоцитов, %	74,3 ± 8,19 72,5 [69,25;81,75]	66,32 ± 17,9 71 [47,75;81,75]	52,10 ± 17,1 55,5 [37,25;64]	52,22 ± 18,1 60,5 [39;70]	p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,0001 p_{2-3} 0,013 p_{3-4} 0,05
Доля сфероцитов, %	18,83 ± 6,64 18,0 [13;23,75]	27,36 ± 16,6 23 [14;41,75]	42,15 ± 16,84 41,5[26,25;59]	41,33± 19,2 34 [24;51,5]	p_{1-2} 0,078 p_{1-3} 0,0001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,009 p_{2-4} 0,038
Доля деформированных клеток, %	19,98± 7,34 18,0 [15,25;24,75]	47,05± 20,4 41,5 [32,25;59,25	63,25± 10,6 65 [56,75;69,75]	62,0± 11,65 63,0 [54,75;73]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,002 p_{2-4} 0,026
Измененный характер поверхности клеток, усл. коэффициент	1,08 ± 0,27 1,0 [1;1]	1,5 ± 0,51 1,5 [1;2]	1,85 ± 0,36 2,0 [2,0;2,0]	1,78 ± 0,44 2,0 [1,25;2]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,018

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК, обострение n = 22 (2)	Группа пациентов с БК, обострение n = 20 (3)	Группа пациентов с НКК, обострение n = 10 (4)	Критерий Манна-Уитни p
Амплитуда деформации, на частоте 10^6 Гц, м	$8{,}15\cdot10^{-6}$ ± $0{,}65\cdot10^{-6}$ $8{,}08\cdot10^{-6}$ [$7{,}64\cdot10^{-6}$; $8{,}67\cdot10^{-6}$]	$6{,}56\cdot10^{-6}$± $0{,}52\cdot10^{-6}$ $6{,}59\cdot10^{-6}$ [$6{,}22\cdot10^{-6}$; $6{,}88\cdot10^{-6}$]	$6{,}09\cdot10^{-6}$ ± $0{,}46\cdot10^{-6}$ $6{,}19\cdot10^{-6}$ [$5{,}77\cdot10^{-6}$; $6{,}39\cdot10^{-6}$]	$5{,}93\cdot10^{-6}$ ± $0{,}54\cdot10^{-6}$ $6{,}13\cdot10^{-6}$ [$5{,}55\cdot10^{-6}$; $6{,}32\cdot10^{-6}$]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,005 p_{2-4} 0,01
Степень изменения амплитуды деформации на частоте 0,5 × 10^6 Гц, %	75,38± 7,17 74,5 [68,25;81]	57,36± 10,8 58,5 [47;66,25]	47,10± 9,32 48 [41;55]	47,11± 11,17 49 [41,25;56]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,004
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	$6{,}49\cdot10^{-6}$ ± $0{,}9\cdot10^{-6}$ $6{,}57\cdot10^{-6}$ [$5{,}87\cdot10^{-6}$; $7{,}12\cdot10^{-6}$]	$9{,}18\cdot10^{-6}$ ± $0{,}52\cdot10^{-6}$ $9{,}08\cdot10^{-6}$ [$8{,}84\cdot10^{-6}$; $9{,}70\cdot10^{-6}$]	$9{,}56\cdot10^{-6}$ ± $0{,}47\cdot10^{-6}$ $9{,}67\cdot10^{-6}$ [$9{,}29\cdot10^{-6}$; $9{,}88\cdot10^{-6}$]	$9{,}64\cdot10^{-6}$ ± $0{,}56\cdot10^{-6}$ $9{,}69\cdot10^{-6}$ [$9{,}58\cdot10^{-6}$; $9{,}87\cdot10^{-6}$]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,017 p_{2-4} 0,033
Обобщенный показатель вязкости, Па с	0,57 ± 0,07 0,58 [0,51;0,61]	0,715 ± 0,033 0,71 [0,69;0,74]	0,747 ± 0,030 0,74 [0,73;0,77]	0,751 ± 0,031 0,74 [0,73;0,77]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,003 p_{2-4} 0,01
Индекс агрегации Er, усл. коэффициент	0,40 ± 0,2 0,19 [0,12;0,51]	0,63 ± 0,1 0,61 [0,53;0,71]	0,68 ± 0,09 0,67 [0,64;0,75]	0,71 ± 0,2 0,62 [0,57;0,97]	p_{1-2} 0,001 p_{1-3} 0,001 p_{1-4} 0,001 p_{2-3} 0,06
Индекс деструкции Er при 10^6Гц, %	0,11 ± 0,45 0,000 [0;0]	0,536 ± 1,4 0,000 [0;0]	1,17 ± 1,38 0,000 [0;2,3]	0,322 ± 0,96 0,000 [0;0]	p_{1-3} 0,0001 p_{2-3}0,072
Индекс деструкции Er при 0,5 × 10^6 Гц, %	0,11± 0,34 0,000 [0;0]	0,65 ± 1,37 0,000[0;0,325]	0,99 ± 1,67 0,000 [0;2,58]	0,322± 0,96 0,000 [0;0]	p_{1-2} 0,089 p_{1-3} 0,015

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК, обострение n = 22 (2)	Группа пациентов с БК, обострение n = 20 (3)	Группа пациентов с НКК, обострение n = 10 (4)	Критерий Манна-Уитни p
Индекс деструкции Er при 0,1 × 106 Гц, %	0,04± 0,3 0,000 [0;0]	0,66 ± 1,32 0,000[0;0,475]	0,95 ± 1,25 0,000 [0;2,15]	0,20 ± 0,56 0,000 [0;0]	p_{1-2} 0,003 p_{1-3} 0,0001
Индекс деструкции Er при $0,5 \times 10^5$ Гц, %	0,02 ± 0,15 0,000 [0;0]	0,47 ± 1,06 0,000 [0;0]	0,89 ±2,34 0,000 [0;0]	0,37 ± 1,1 0,000 [0;0]	p_{1-2} 0,01 p_{1-3} 0,028
Поляризуемость на частоте 10^6 Гц, м^3	$6,58 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,07 \cdot 10^{-15}$ $6,14 \cdot 10^{-15}$ [$5,19 \cdot 10^{-15}$; $7,78 \cdot 10^{-15}$]	$5,48 \cdot 10^{-15}$ $\pm 3,38 \cdot 10^{-15}$ $4,76 \cdot 10^{-15}$ [$3,31 \cdot 10^{-15}$; $6,61 \cdot 10^{-15}$]	$4,26 \cdot 10^{-15}$ $\pm 1,66 \cdot 10^{-15}$ $4,04 \cdot 10^{-15}$ [$3,04 \cdot 10^{-15}$; $4,96 \cdot 10^{-15}$]	$3,81 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,0 \cdot 10^{-15}$ $3,62 \cdot 10^{-15}$ [$2,48 \cdot 10^{-15}$; $5,65 \cdot 10^{-15}$]	p_{1-2} 0,02 p_{1-3} 0,0001 p_{1-4} 0,002
Поляризуемость на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, м^3	$4,76 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,35 \cdot 10^{-15}$ $4,20 \cdot 10^{-15}$ [$3,12 \cdot 10^{-15}$; $6,06 \cdot 10^{-15}$]	$6,33 \cdot 10^{-15}$ $\pm 4,02 \cdot 10^{-15}$ $5,7 \cdot 10^{-15}$ [$3,29 \cdot 10^{-15}$; $8,4 \cdot 10^{-15}$]	$4,05 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,92 \cdot 10^{-15}$ $3,17 \cdot 10^{-15}$ [$2,27 \cdot 10^{-15}$; $5,24 \cdot 10^{-15}$]	$4,69 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,08 \cdot 10^{-15}$ $4,98 \cdot 10^{-15}$ [$3,02 \cdot 10^{-15}$; $7,07 \cdot 10^{-15}$]	p_{1-3} 0,066 p_{2-3} 0,017
Поляризуемость на частоте $0,1 \times 10^6$ Гц, м^3	$-3,59 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,59 \cdot 10^{-15}$ $-2,18 \cdot 10^{-15}$ [$-1,89 \cdot 10^{-15}$; $-5,41 \cdot 10^{-15}$]	$-4,01 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,2 \cdot 10^{-15}$ $-3,88 \cdot 10^{-15}$ [$-1,96 \cdot 10^{-15}$; $-5,34 \cdot 10^{-15}$]	$-4,96 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,59 \cdot 10^{-15}$ $-4,10 \cdot 10^{-15}$ [$-3,1 \cdot 10^{-15}$; $-6,05 \cdot 10^{-15}$]	$-3,37 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,66 \cdot 10^{-15}$ $-2,86 \cdot 10^{-15}$ [$-1,98 \cdot 10^{-15}$; $-3,89 \cdot 10^{-15}$]	p_{1-3} 0,058 p_{3-4} 0,059
Поляризуемость на частоте $0,05 \times 10^6$ Гц, м^3	$-4,95 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,12 \cdot 10^{-15}$ $-4,16 \cdot 10^{-15}$ [$-3,47 \cdot 10^{-15}$; $-6,09 \cdot 10^{-15}$]	$-4,88 \cdot 10^{-15}$ $\pm 4,42 \cdot 10^{-15}$ $-4,06 \cdot 10^{-15}$ [$-2,34 \cdot 10^{-15}$; $-5,58 \cdot 10^{-15}$]	$-3,51 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,01 \cdot 10^{-15}$ $-3,16 \cdot 10^{-15}$ [$-2,12 \cdot 10^{-15}$; $-4,15 \cdot 10^{-15}$]	$-2,88 \cdot 10^{-15}$ $\pm 2,44 \cdot 10^{-15}$ $-2,24 \cdot 10^{-15}$ [$-1,32 \cdot 10^{-15}$; $-3,77 \cdot 10^{-15}$]	p_{1-3} 0,001 p_{1-4} 0,001 p_{2-4} 0,037 p_{3-4} 0,099
Относительная поляризуемость	0,93±0,33 0,77 [0,70;1,24]	1,51±0,84 1,48 [0,85;1,92]	0,95±0,11 0,85 [0,67;1,17]	1,27±0,62 1,22 [0,66;1,97]	p_{1-2} 0,002 p_{2-3} 0,019

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с ЯК, обострение n = 22 (2)	Группа пациентов с БК, обострение n = 20 (3)	Группа пациентов с НКК, обострение n = 10 (4)	Критерий Манна-Уитни p
Электропроводность, см/м	$5{,}1\cdot10^{-5}$ $\pm 0{,}54\cdot10^{-5}$ $1{,}22\cdot10^{-5}$ $[0{,}66\cdot10^{-5}$ $;1{,}97\cdot10^{-5}]$	$6{,}65\cdot10^{-5}$ $\pm 1{,}16\cdot10^{-5}$ $6{,}35\cdot10^{-5}$ $[5{,}72\cdot10^{-5}$ $;7{,}36\cdot10^{-5}]$	$8{,}26\cdot10^{-5}$ $\pm 1{,}22\cdot10^{-5}$ $8{,}95\cdot10^{-5}$ $[7{,}13\cdot10^{-5}$ $;9{,}26\cdot10^{-5}]$	$7{,}11\cdot10^{-5}$ $\pm 1{,}04\cdot10^{-5}$ $6{,}49\cdot10^{-5}$ $[6{,}25\cdot10^{-5}$ $;8{,}09\cdot10^{-5}]$	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,0001 p_{3-4} 0,048
Емкость клеточной мембраны, Ф	$7{,}26\cdot10^{-14}$ $\pm 0{,}53\cdot10^{-14}$ $7{,}32\cdot10^{-14}$ $[6{,}92\cdot10^{-14}$ $;7{,}61\cdot10^{-14}]$	$9{,}11\cdot10^{-14}$ $\pm 2{,}65\cdot10^{-14}$ $8{,}69\cdot10^{-14}$ $[7{,}84\cdot10^{-14}$ $;11{,}0\cdot10^{-14}]$	$2{,}03\cdot10^{-14}$ $\pm 0{,}98\cdot10^{-14}$ $2{,}06\cdot10^{-14}$ $[1{,}16\cdot10^{-14}$ $;2{,}88\cdot10^{-14}]$	$5{,}33\cdot10^{-14}$ $\pm 3{,}95\cdot10^{-14}$ $5{,}35\cdot10^{-14}$ $[1{,}94\cdot10^{-14}$ $;9{,}77\cdot10^{-14}]$	p_{1-2} 0,0001 p_{1-3} 0,0001 p_{2-3} 0,0001 p_{2-4} 0,031 p_{3-4} 0,043
Скорость поступательного движения Er к электродам, мкм/с	7,75 ± 1,07 7,8 [7,13;8,38]	4,64 ± 0,98 4,7 [4,07;5,10]	3,59 ± 0,84 3,7 [3,03;4,17]	3,66 ± 0,81 3,6 [3,1;4,58]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,00001 p_{2-4} 0,00001
Равновесная частота, Гц	$0{,}49\cdot10^{6}$ $\pm 0{,}07\cdot10^{6}$ $0{,}51\cdot10^{6}$ $[0{,}43\cdot10^{6}$ $;0{,}54\cdot10^{6}]$	$0{,}60\cdot10^{6}$ $\pm 1{,}49\cdot10^{6}$ $0{,}27\cdot10^{6}$ $[0{,}22\cdot10^{6}$ $;0{,}28\cdot10^{6}]$	$1{,}66\cdot10^{6}$ $\pm 0{,}99\cdot10^{6}$ $1{,}49\cdot10^{6}$ $[0{,}88\cdot10^{6}$ $;2{,}12\cdot10^{6}]$	$0{,}89\cdot10^{6}$ $\pm 0{,}97\cdot10^{6}$ $0{,}52\cdot10^{6}$ $[0{,}24\cdot10^{6}$ $;1{,}12\cdot10^{6}]$	p_{1-2} 0,001 p_{1-3} 0,001 p_{1-4} 0,001 p_{2-3} 0,001 p_{3-4} 0,018
Дипольный момент, Кл/м	$7{,}59\cdot10^{-21}$ $\pm 0{,}99\cdot10^{-21}$ $7{,}51\cdot10^{-21}$ $[7{,}08\cdot10^{-21}$ $;8{,}14\cdot10^{-21}]$	$5{,}37\cdot10^{-21}$ $\pm 1{,}22\cdot10^{-21}$ $5{,}27\cdot10^{-21}$ $[4{,}68\cdot10^{-21}$ $;6{,}41\cdot10^{-21}]$	$3{,}97\cdot10^{-21}$ $\pm 0{,}79\cdot10^{-21}$ $3{,}96\cdot10^{-21}$ $[3{,}25\cdot10^{-21}$ $;4{,}63\cdot10^{-21}]$	$3{,}82\cdot10^{-21}$ $\pm 0{,}77\cdot10^{-21}$ $3{,}97\cdot10^{-21}$ $[3{,}2\cdot10^{-21}$ $;4{,}32\cdot10^{-21}]$	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{1-4} 0,00001 p_{2-3} 0,0001 p_{2-4} 0,002

При анализе параметров эритроцитов в выделенных группах выявились особенности, важные для дифференцирования разных нозологических вариантов ВЗК.

Эритроциты пациентов с БК в стадии обострения отличались от эритроцитов больных активным язвенным колитом сниженным количеством дискоцитарных форм ($p = 0,013$), с более высоким уровнем сфероцитарных ($p = 0,009$), деформированных клеток ($p = 0,002$), с измененным характером поверхности ($p = 0,018$), с меньшей способностью к деформации на высоких частотах (на частоте 10^6 Гц ($p = 0,005$) и на ($0,5 \times 10^6$ Гц) ($p = 0,004$)), с большими значениями обобщенных вязкости ($p = 0,003$) и жесткости клеток ($p = 0,017$). Клетки красной крови пациентов с БК в стадии обострения проявляли большую тенденцию к образованию агрегатов ($p = 0,06$) и гемолизу на разных частотах диапазона электрического поля (($p = 0,072$) на частоте 10^6 Гц), чем при активном ЯК. Пациенты с БК в стадии обострения имели более низкие уровни поляризуемости на высоких (на частоте ($0,5 \times 10^6$) Гц ($p = 0,017$)) и низкой частоте (($0,05 \times 10^6$) Гц ($p = 0,099$)), а также относительной поляризуемости ($p = 0,019$). Эритроциты пациентов с БК в стадии обострения имели достоверно более низкие уровни скорости поступательного движения к электродам ($p < 0,001$), дипольного момента ($p < 0,0001$) и емкости мембран($p < 0,0001$), чем эти показатели при активном ЯК. Кроме того, при активной БК в сравнении с активным ЯК уровень электропроводности оказался значительно выше ($p < 0,0001$), а равновесная частота – резко сдвинутой в высокочастотный диапазон ($p < 0,001$) (рисунок 3). При этом по степени тяжести заболевания и активности обострения группа больных БК от пациентов с ЯК не отличалась.

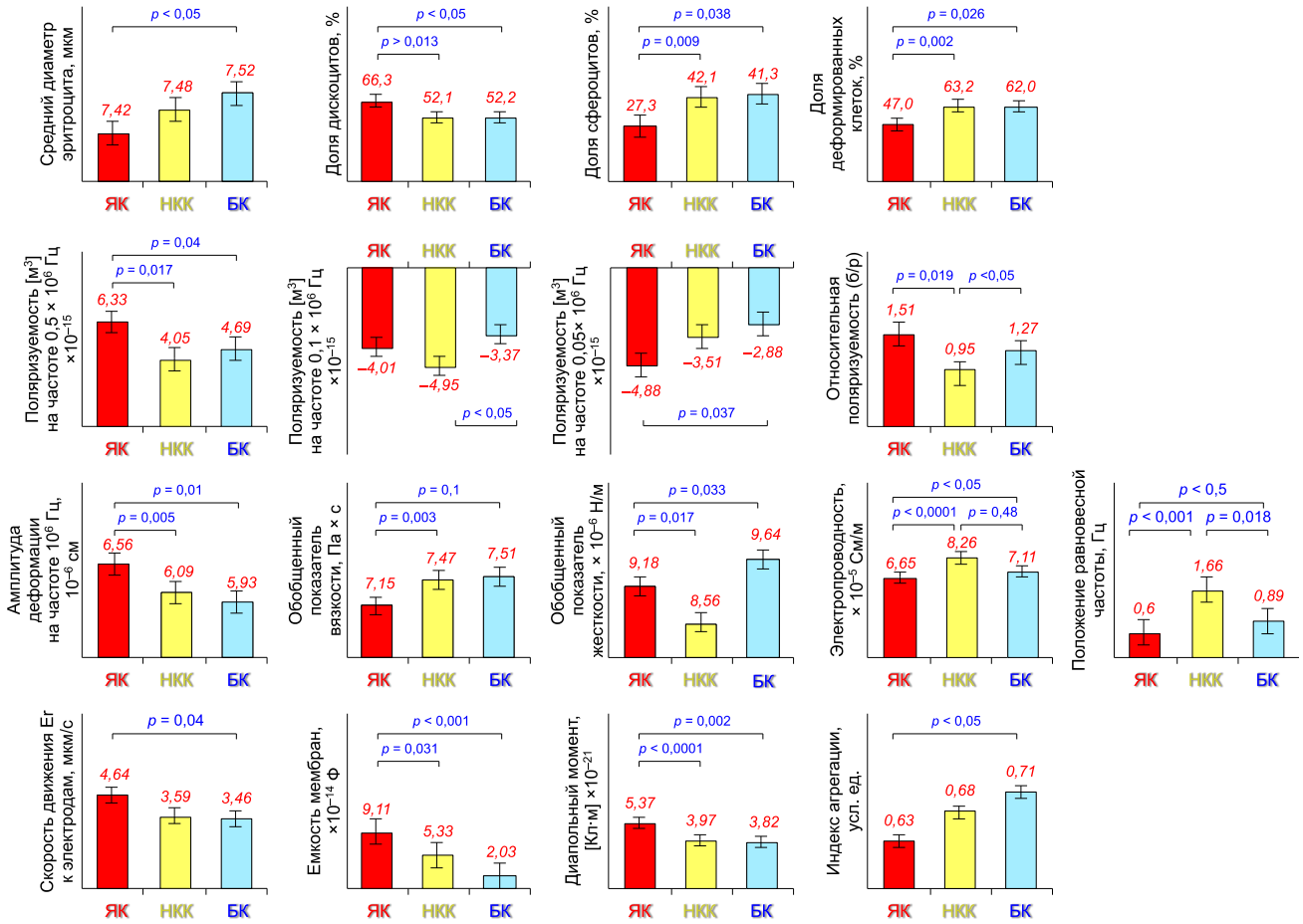


Рисунок 3 – Уровни электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными нозологическими формами ВЗК в стадии обострения

Эритроциты пациентов с активным НКК по уровню ряда параметров (относительная поляризуемость, электропроводность, емкость мембран, положение равновесной частоты) занимали промежуточное положение между таковыми у больных с ЯК и БК. Значения целого перечня показателей эритроцитов оказались близкими к таковым при активной болезни Крона, отличаясь от ЯК, это – средний диаметр клеток, доля дискоцитов, сфероцитарных ($p = 0,038$), деформированных форм ($p = 0,026$), характер поверхности клеток, амплитуда деформации клеток на высоких частотах ($p < 0,01$), обобщенные показатели вязкости ($p < 0,01$), жесткости ($p = 0,033$), индекс агрегации, величина дипольного момента ($p = 0,002$) и скорость движения к электродам ($p < 0,00001$).

Вместе с тем, поляризуемость на частоте 10^6 Гц у пациентов с активным НКК имела тенденцию к снижению по сравнению с ее уровнем при активных ЯК и БК, а на низких частотах она оказалась выше, чем в других группах с ВЗК. Клетки красной крови у больных с НКК в обострении оказались менее склонны к гемолизу, чем в других группах, хотя без уровня достоверности.

Поскольку одна из возможных причин наблюдаемых различий в обследуемых группах – наличие анемий различного генеза, данный аспект был проанализирован отдельно в данных подгруппах (таблица 9).

Таблица 9 – Анемии различного генеза у пациентов с ВЗК в стадии обострения (до начала терапии или на фоне терапии препаратами 5-АСК)

Показатели	Группа пациентов с ЯК, обострение n = 22 (2)	Группа пациентов с БК, обострение n = 20 (3)	Группа пациентов с НКК, обострение n = 10 (4)	Всего
Анемия, n (%)	14 (63,6 %)	15 (75 %)	1 (10 %)	30 (57,7 %)
Железодефицитная анемия, n (%)	11 (50%)	1 (5%)	1 (10 %)	13 (25 %)
Анемия воспалительных заболеваний, n (%)	—	13 (65 %)	—	13 (25 %)
Анемия смешанного генеза, n (%)	3 (13,6 %)	1 (5 %)	—	4 (7,7 %)

Критерий ANOVAмежду группами по наличию анемий разного генеза свидетельствовал о наличии достоверных различий по данному показателю – F 3,392; ($p = 0,049$); хи-квадрат 15,187; ($p < 0,01$).

Из данных таблицы следует, что у большей части пациентов с активным ЯК (11 человек, 50%) выявлена железодефицитная анемия, в группе больных с

активной болезнью Крона преобладала анемия воспалительных заболеваний (в 13 случаях, что составило 65% от числа всех пациентов в группе).

3.2.4 Корреляции электрических, вязкоупругих параметров эритроцитов с клинико-биохимическими показателями

На рисунке 4 представлены ассоциации активности ВЗК с уровнями ряда электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов.

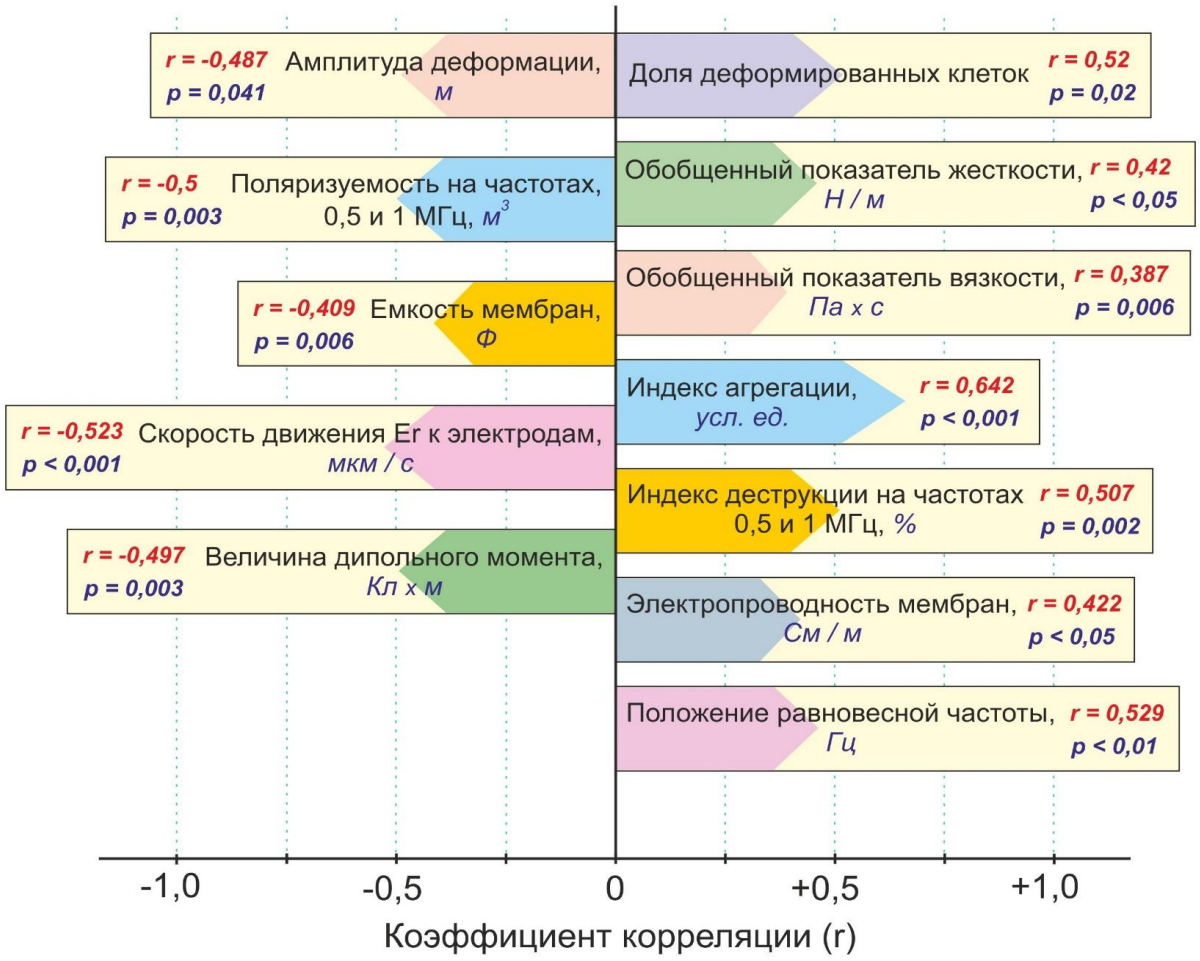


Рисунок 4 – Корреляции активности ВЗК с уровнями электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов

Ниже представлены корреляции электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с некоторыми показателями красной крови, определяемыми стандартным гематологическим анализатором, а также показателями обмена железа и маркерами воспаления (представлены ассоциации как для группы в целом, так и отдельно для групп с язвенным колитом и болезнью Крона). Следует отметить, что ряд вязкоупругих параметров эритроцитов – средний диаметр клетки, доля дискоцитарных форм, амплитуда деформации на высоких частотах электрического поля, емкость мембран, скорость движения клеток к электродам и величина дипольного момента демонстрировали прямые корреляции с количеством эритроцитов, уровнем гемоглобина, цветовым показателем, гематокритом, MCV, MCH, MCHC, уровнем железа сыворотки, трансферрином, коэффициентом насыщения трансферрина железом и альбумином. В то же время, те же вязкоупругие характеристики эритроцитов отрицательно коррелировали с маркерами воспаления – СОЭ, трансферрином, фибриногеном, С-реактивным белком. Причем сила и достоверность связей наиболее ярко проявлялись в группе с БК. Для уровня ферритина обратные ассоциации с амплитудой деформации ($r = -0{,}255$) ($p < 0{,}05$); с емкостью мембран ($r = -0{,}421$) ($p = 0{,}006$); скоростью поступательного движения клеток к электродам ($r = -0{,}311$) ($p < 0{,}05$); величиной дипольного момента ($r = -0{,}302$) ($p = 0{,}02$) и прямые – с положением равновесной частоты ($r = -0{,}361$) ($p = 0{,}007$) выявлены лишь у пациентов с БК. Следует заметить, что корреляции параметров эритроцитов именно с ферритином для обобщенной жесткости и электропроводности отличались по характеру связи в общей группе и в группе с БК: в общей группе ассоциации были обратными – для жесткости ($r = -0{,}154$) ($p = 0{,}077$); для электропроводности ($r = -0{,}232$) ($p = 0{,}007$). А в подгруппе с БК связи между показателями оказались прямыми – ($r = -0{,}325$) ($p = 0{,}023$) для жесткости; ($r = -0{,}365$) ($p = 0{,}004$) для электропроводности. Подобная разнонаправленность, вероятно, обусловлена отличаюшейся ролью ферритина при нозологических вариантах ВЗК и, соответственно, при различных типах анемий.

Высоко достоверные отрицательные корреляции скорости движения клеток к электродам и величины дипольного момента с маркерами воспаления (СОЭ, СРБ, фибриноген) в общей группе и у пациентов с болезнью Крона и прямые ассоциации с уровнем альбумина косвенно подтверждают значимость данных показателей для величины поверхностного заряда эритроцитов. Выяснилось, что при болезни Крона проявляются прямые корреляции индекса деструкции на разных частотах со значениями СОЭ и уровнем фибриногена (на частоте $(0,5 \times 10^6)$ Гц – для СОЭ ($r = 0,468$) ($p < 0,001$); для фибриногена – ($r = 0,325$) ($p = 0,041$; на частоте $(0,1 \times x10^6)$ Гц – для СОЭ ($r = 0,367$) ($p = 0,008$); для фибриногена – ($r = 0,568$) ($p < 0,0001$); на частоте $(0,05 \times 10^6)$ Гц – для фибриногена ($r = 0,348$) ($p = 0,028$). Также при БК выявлены обратные связи индексов деструкции с показателями поляризуемости, что косвенно свидетельствует об ассоциации склонности к гемолизу эритроцитов с уровнем резистентности и зрелости клеток (таблица 10).

Таблица 10 – Корреляции вязкоупругих и электрических характеристик эритроцитов у пациентов с ВЗК с показателями красной крови, показателями обмена железа, маркерами воспаления

Электр. и вязко-упругие параметр. эритро-цитов	Кол-во эритро-цитов, × 10^{12}/л	Уровень гемо-глобина, г/л	Цвето-вой показа-тель	СОЭ, мм/ч	Гемато-крит, %	MCV, fl	MCH, пг	MCHC, г/л	Железо сыво-ротки, мкмоль/л	Ферри-тин, мкг/л	Транс-феррин, г/л	Коэф-фициент насы-щения транс-феррина железом, %	С-реактив-ный белок, мг/л	Фибри-ноген, г/л	Альбу-мин, г/л
Средний диаметр эритро-цита, мкм	**0,312 (0,0001)** н *н*	**0,475 (0,0001)** н *н*	**0,368 (0,0001** 0,226 (0,058) *н*	**−0,45 (0,0001)** −0,357 (0,002) *−0,375 (0,007)*	**0,358 (0,0001)** н *0,369 (0,008)*	**0,306 (0,0001** 0,310 (0,004) *0,327 (0,009)*	**0,210 (0,014)** 0,334 (0,008) *н*	**0,357 (0,0001)** 0,342 (0,006) *н*	**0,407 (0,0001)** н *0,321 (0,024)*	**0,233 (0,007)** н *н*	**0,248 (0,005)** н *н*	**0,397 (0,0001)** н *0,349 (0,014)*	**−0,407 (0,0001)** −0,218 (0,068) *−0,367 (0,005)*	**−0,422 (0,0001)** −0,302 (0,05) *−0,382 (0,006)*	**0,349 (0,0001** 0,287 (0,022) *0,402 (0,004)*
Доля дискоци-тов, %	**0,224 (0,004)** н *0,244 (0,082)*	**0,521 (0,0001)** н*0,348 (0,011)*	**0,417 (0,0001** 0,416 (0,0001) *н*	**−0,474 (0,0001)** н *−0,457 (0,0001)*	**0,401 (0,0001)** н *0,287 (0,041)*	**0,404 (0,0001)** 0,363 (0,035) *н*	**0,388 (0,0001** 0,330 (0,008) *0,393 (0,008)*	**0,379 (0,0001)** 0,245 (0,05) *0,354 (0,018)*	**0,443 (0,0001)** 0,278 (0,026) *0,246 (0,089)*	**н** н *н*	**0,393 (0,0001)** 0,253 (0,042) *0,264 (0,069)*	**0,320 (0,0001)** н *н*	**−0,350 (0,0001** −0,206 (0,085) *−0,287 (0,04)*	**−0,479 (0,0001)** н *0,0534 (0,0001)*	**0,346 (0,0001)** 0,446 (0,0001) *н*

Электр. и вязко-упругие параметр. эритро-цитов	Кол-во эритро-цитов, × 10^{12}/л	Уровень гемо-глобина, г/л	Цвето-вой показа-тель	СОЭ, мм/ч	Гемато-крит, %	MCV, fl	MCH, пг	MCHC, г/л	Железо сыво-ротки, мкмоль/л	Ферри-тин, мкг/л	Транс-феррин, г/л	Коэф-фициент насы-щения транс-феррина железом, %	С-реактив-ный белок, мг/л	Фибри-ноген, г/л	Альбу-мин, г/л
Доля сфероци-тов, %	**−0,216 (0,006)** н *−0,241 (0,085)*	**−0,539 (0,0001)** н *−0,372 (0,006)*	**−0,411 (0,0001** −0,393 (0,001) *н*	**0,532 (0,0001)** н *0,476 (0,0001)*	**−0,399 (0,0001)** н *−0,331 (0,018)*	**−0,375 (0,0001** −0,33 (0,05) *н*	**−0,385 (0,0001** −0,297 (0,018) *−0,438 (0,003)*	**−0,428 (0,0001)** −0,279 (0,027) *−0,398 (0,008)*	**−0,461 (0,0001)** −0,272 (0,03) *−0,279 (0,05)*	**н** н *н*	**−0,457 (0,0001)** −0,300 (0,015) *н*	**−0,348 (0,0001)** н *н*	**0,386 (0,0001** 0,234 (0,05) *0,318 (0,01)*	**0,521 (0,0001)** н *0,553 (0,0001)*	**−0,361 (0,0001)** −0,390 (0,001) *н*
Доля деформи-рованных клеток, %	**−0,292 (0,0001)** −0,257 (0,032) *н*	**−0,594 (0,0001)** −0,347 (0,003) *−0,315 (0,022)*	**−0,410 (0,0001** −0,326 (0,005) *−0,249 (0,087)*	**0,651 (0,0001)** 0,394 (0,001) *0,495 (0,0001)*	**−0,453 (0,0001)** −0,234 (0,068) *−0,368 (0,008)*	**−0,415 (0,0001** н *−0,405 (0,076)*	**−0,386 (0,0001** −0,299 (0,017) *н*	**−0,491 (0,0001)** −0,463 (0,0001) *н*	**−0,484 (0,0001)** −0,224 (0,075) *н*	**−0,188 (0,03)** н *н*	**−0,253 (0,004)** н *н*	**−0,507 (0,0001)** н *н*	**0,476 (0,0001** 0,209 (0,08) *0,321 (0,021)*	**0,581 (0,0001)** 0,389 (0,005) *0,390 (0,013)*	**−0,362 (0,0001)** −0,242 (0,05) *−0,425 (0,002)*

Электр. и вязко-упругие параметр. эритро-цитов	Кол-во эритро-цитов, × 10^{12}/л	Уровень гемо-глобина, г/л	Цвето-вой показа-тель	СОЭ, мм/ч	Гемато-крит, %	MCV, fl	MCH, пг	MCHC, г/л	Железо сыво-ротки, мкмоль/л	Ферри-тин, мкг/л	Транс-феррин, г/л	Коэф-фициент насы-щения транс-феррина железом, %	С-реактив-ный белок, мг/л	Фибри-ноген, г/л	Альбу-мин, г/л
Изменен. характер поверх-ности клеток (усл. коэф.)	**−0,292 (0,0001)** н *н*	**−0,539 (0,0001)** −0,295 (0,012) *−0,359 (0,008)*	**−0,402 (0,0001** −0,318 (0,007) *−0,331 (0,022)*	**0,559 (0,0001)** 0,380 (0,001) *0,532 (0,0001)*	**−0,434 (0,0001)** н *−0,453 (0,001)*	**−0,359 (0,0001** н *−0,480 (0,032)*	**−0,388 (0,0001** −0,307 (0,014) *−0,293 (0,05)*	**−0,425 (0,0001)** −0,401 (0,001) *н*	**−0,483 (0,0001)** −0,262 (0,036) *−0,283 (0,049)*	**−0,223 (0,01)** н *н*	**−0,286 (0,001)** н *н*	**−0,469 (0,0001)** н *−0,444 (0,001)*	**0,450 (0,0001** н *0,275 (0,05)*	**0,617 (0,0001)** 0,430 (0,002) *0,553 (0,0001)*	**−0,248 (0,005)** н *−0,293 (0,039)*
Ампли-туда дефор-мации при 10^6 Гц, м	**0,196 (0,013)** н *н*	**0,482 (0,0001)** н *н*	**0,417 (0,0001** 0,319 (0,007) *0,382 (0,007)*	**−0,560 (0,0001)** −0,396 (0,001) *−0,285 (0,043)*	**0,361 (0,0001)** н *0,316 (0,024)*	**0,416 (0,0001** н *0,447 (0,048)*	**0,361 (0,0001** 0,384 (0,002) *н*	**0,374 (0,0001)** 0,372 (0,003) *н*	**0,427 (0,0001)** 0,249 (0,048) *н*	**—** н *−0,255 (0,05)*	**0,336 (0,0001)** 0,244 (0,05) *0,308 (0,033)*	**0,433 (0,0001)** н *0,254 (0,078)*	**−0,495 (0,0001)** −0,350 (0,012) *−0,341 (0,004)*	**−0,602 (0,0001)** −0,271 (0,091) *−0,498 (0,0001)*	**0,245 (0,005)** н *н*

Электр. и вязко-упругие параметр. эритро-цитов	Кол-во эритро-цитов, × 10^{12}/л	Уровень гемо-глобина, г/л	Цвето-вой показа-тель	СОЭ, мм/ч	Гемато-крит, %	MCV, fl	MCH, пг	MCHC, г/л	Железо сыво-ротки, мкмоль/л	Ферри-тин, мкг/л	Транс-феррин, г/л	Коэф-фициент насы-щения транс-феррина железом, %	С-реактив-ный белок, мг/л	Фибри-ноген, г/л	Альбу-мин, г/л
Степень деформации при 0,5x10^6 Гц (%)	**0,206 (0,009)** н *н*	**0,523 (0,0001)** н *0,232 (0,095)*	**0,428 (0,0001** 0,264 (0,026) *0,404 (0,004)*	**−0,582 (0,0001)** −0,257 (0,068) *−0,328 (0,005)*	**0,407 (0,0001)** н *0,29 (0,039)*	**0,425 (0,0001** 0,390 (0,023) *0,407 (0,075)*	**0,370 (0,0001** 0,320 (0,011) *н*	**0,409 (0,0001)** 0,318 (0,011) *н*	**0,483 (0,0001)** н *н*	**0,161 (0,064)** н *н*	**0,363 (0,0001)** 0,242 (0,052) *н*	**0,449 (0,0001)** н *0,256 (0,076)*	**−0,475 (0,0001** −0,238 (0,093) *−0,246 (0,039)*	**−0,612 (0,0001)** −0,308 (0,053) *−0,456 (0,001)*	**0,26 (0,003)** н *н*
Обобщ. показа-ель жесткос-ти, (Н/м)	**−0,226 (0,004)** н *н*	**−0,506 (0,0001)** н *−0,233 (0,093)*	**−0,369 (0,0001)** −0,298 (0,012) *−0,251 (0,085)*	**0,611 (0,0001)** 0,359 (0,002) *0,296 (0,035)*	**−0,374 (0,0001)** н *−0,235 (0,097)*	**−0,378 (0,0001)** −0,324 (0,061) *−0,402 (0,079)*	**−0,327 (0,0001)** −0,374 (0,003) *н*	**−0,409 (0,0001)** −0,431 (0,0001) *н*	**−0,445 (0,0001)** −0,222 (0,078) *н*	**−0,154 (0,077)** н *0,325 (0,023)*	**−0,371 (0,0001)** −0,273 (0,028) *н*	**−0,437 (0,0001)** н *−0,299 (0,037)*	**0,611 (0,0001** 0,296 (0,035) *0,359 (0,002)*	**0,59 (0,0001)** 0,306 (0,055) *0,456 (0,001)*	**−0,23 (0,009)** н *н*

Электр. и вязко-упругие параметр. эритро-цитов	Кол-во эритро-цитов, × 10^{12}/л	Уровень гемо-глобина, г/л	Цвето-вой показа-тель	СОЭ, мм/ч	Гемато-крит, %	MCV, fl	MCH, пг	MCHC, г/л	Железо сыво-ротки, мкмоль/л	Ферри-тин, мкг/л	Транс-феррин, г/л	Коэф-фициент насы-щения транс-феррина железом, %	С-реактив-ный белок, мг/л	Фибри-ноген, г/л	Альбу-мин, г/л
Обобщ. показа-тель вязкости, (Па·с)	**−0,234 (0,003)** н *н*	**−0,512 (0,0001)** −0,214 (0,071) *−0,250 (0,07)*	**−0,373 (0,0001)** −0,308 (0,009) *−0,386 (0,007)*	**0,579 (0,0001)** 0,367 (0,002) *0,363 (0,009)*	**−0,428 (0,0001)** н *−0,360 (0,009)*	**−0,342 (0,0001)** н *−0,511 (0,021)*	**−0,317 (0,0001)** −0,354 (0,004) *н*	**−0,388 (0,0001)** −0,393 (0,001) *н*	**−0,408 (0,0001)** н *н*	**н** н *0,243 (0,05)*	**−0,383 (0,0001)** −0,256 (0,04) *0,244 (0,095)*	**−0,368 (0,0001)** н *−0,343 (0,016)*	**0,459 (0,0001** 0,345 (0,013) *0,331 (0,005)*	**0,542 (0,0001)** 0,455 (0,001) *0,370 (0,019)*	**−0,284 (0,001)** н *−0,261 (0,067)*
Электро-про-водность, (См/м)	**−0,283 (0,0001)** −0,295 (0,013) *н*	**−0,594 (0,0001)** −0,349 (0,003) *−0,275 (0,047)*	**−0,512 (0,0001)** −0,463 (0,0001) *−0,356 (0,013)*	**0,578 (0,0001)** 0,353 (0,003) *0,294 (0,036)*	**−0,551 (0,0001)** н *−0,365 (0,009)*	**−0,475 (0,0001)** н *н*	**−0,436 (0,0001)** −0,413 (0,001) *н*	**−0,576 (0,0001)** −0,490 (0,0001) *−0,278 (0,067)*	**−0,510 (0,0001)** −0,343 (0,005) *н*	**−0,232 (0,007)** н *0,365 (0,004)*	**−0,258 (0,003)** н *н*	**−0,574 (0,0001)** н *н*	**0,538 (0,0001)** 0,262 (0,028) *0,288 (0,041)*	**0,5552 (0,0001)** 0,249 (0,078) *0,378 (0,016)*	**−0,417 (0,0001)** −0,359 (0,004) *−0,304 (0,032)*

Электр. и вязко-упругие параметр. эритро-цитов	Кол-во эритро-цитов, × 10^{12}/л	Уровень гемо-глобина, г/л	Цвето-вой показа-тель	СОЭ, мм/ч	Гемато-крит, %	MCV, fl	MCH, пг	MCHC, г/л	Железо сыво-ротки, мкмоль/л	Ферри-тин, мкг/л	Транс-феррин, г/л	Коэф-фициент насы-щения транс-феррина железом, %	С-реактив-ный белок, мг/л	Фибри-ноген, г/л	Альбу-мин, г/л
Емкость клеточ-ной мембра-ны, (Ф)	**н** н *н*	**0,323 (0,0001)** н *н*	**0,289 (0,0001)** 0,271 (0,022) *н*	**−0,246 (0,002)** н *н*	**0,324 (0,0001)** н *н*	**0,345 (0,0001)** н *0,443 (0,05)*	**0,295 (0,0001)** 0,242 (0,056) *н*	**0,307 (0,0001)** 0,215 (0,09) *н*	**0,241 (0,003)** н *н*	**н** н −0,421 (0,006)	**н** н *н*	**0,258 (0,003)** н *н*	**−0,162 (0,064)** н *−0,257 (0,03)*	**−0,326 (0,0001)** −0,299 (0,033) *−0,342 (0,001)*	**0,280 (0,001)** 0,307 (0,014) *0,246 (0,085)*
Скорость движения эритро-цитов к электро-дам, (мкм/с)	**0,208 (0,008)** н *н*	**0,504 (0,0001)** 0,235 (0,047) *0,277 (0,044)*	**0,443 (0,0001)** 0,417 (0,0001) *0,452 (0,001)*	**−0,541 (0,0001)** −0,251 (0,075) *−0,322 (0,006)*	**0,390 (0,0001)** 0,254 (0,046) *0,405 (0,003)*	**0,362 (0,0001)** н *н*	**0,386 (0,0001)** 0,337 (0,007) *0,401 (0,007)*	**0,415 (0,0001)** 0,277 (0,028) *0,280 (0,065)*	**0,420 (0,0001)** 0,322 (0,009) *н*	**н** н *−0,311 (0,05)*	**0,338 (0,0001)** 0,202 (0,078) *н*	**0,411 (0,0001)** н *н*	**−0,541 (0,0001)** −0,304 (0,03) *−0,351 (0,003)*	**−0,558 (0,0001)** −0,313 (0,049) *−0,344 (0,013)*	**0,349 (0,0001)** 0,299 (0,016) *0,370 (0,008)*

Электр. и вязко-упругие параметр. эритро-цитов	Кол-во эритро-цитов, × 10^{12}/л	Уровень гемо-глобина, г/л	Цвето-вой показа-тель	СОЭ, мм/ч	Гемато-крит, %	MCV, fl	MCH, пг	MCHC, г/л	Железо сыво-ротки, мкмоль/л	Ферри-тин, мкг/л	Транс-феррин, г/л	Коэф-фициент насы-щения транс-феррина железом, %	С-реактив-ный белок, мг/л	Фибри-ноген, г/л	Альбу-мин, г/л
Равновес-ная частота, (Гц)	**н** н *н*	**н** н *н*	**−0,185 (0,011)** н *н*	**н** н *н*	**−0,178 (0,037)** н *н*	**−0,214 (0,012)** н *−0,387 (0,092)*	**−0,197 (0,021)** н *н*	**−0,257 (0,002)** н *н*	**−0,150 (0,068)** н *н*	**н** н *0,361 (0,007)*	**н** н *н*	**−0,232 (0,008)** н *н*	**0,164 (0,061)** н *0,189 (0,05)*	**0,273 (0,003)** н *0,447 (0,004)*	**−0,218 (0,014)** н *н*
Диполь-ный момент, (Кл·м)	**0,221 (0,005)** н *н*	**0,520 (0,0001)** 0,225 (0,057) *0,229 (0,099)*	**0,474 (0,0001)** 0,430 (0,0001) *0,456 (0,001)*	**−0,616 (0,0001)** −0,290 (0,014) *−0,414 (0,003)*	**0,423 (0,0001)** 0,372 (0,007) *н*	**0,375 (0,0001)** н *0,563 (0,01)*	**0,381 (0,0001)** 0,329 (0,008) *н*	**0,425 (0,0001)** 0,321 (0,01) *н*	**0,429 (0,0001)** 0,349 (0,005) *н*	**н** н *−0,302 (0,02)*	**0,318 (0,0001)** н *н*	**0,472 (0,0001)** н *н*	**−0,579 (0,0001)** −0,214 (0,073) *−0,349 (0,012)*	**−0,671 (0,0001)** −0,417 (0,002) *−0,568 (0,0001)*	**0,357 (0,0001)** 0,234 (0,062) *0,374 (0,007)*

Примечания:

1. В круглых скобках указан показатель достоверности данного коэффициента корреляции, н – корреляция статистически незначима;
2. **Прямым полужирным** шрифтом представлены корреляции в общей группе пациентов с ВЗК;
3. Обычным шрифтом – корреляции в группе пациентов с ЯК, *наклонным – в группе пациентов с БК.*

Резюме

Таким образом, у пациентов с ВЗК выявлены особенности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов по сравнению с лицами контрольной группы: клетки красной крови лиц с ВЗК отличались меньшим средним диаметром; увеличенной долей деформированных, сфероцитарных форм клеток с измененным характером поверхности со сниженной способностью к деформации; более низким уровнем поверхностного заряда клеток; измененной структурой мембран с повышенной способностью проводить электрический ток; склонностью к деструкции и образованию агрегатов.

Различия в параметрах эритроцитов в группах с отдельными нозологическими формами ВЗК без учета стадии заболевания касались отдельных характеристик и носили характер тенденций.

Анализ в отдельных группах с ВЗК в стадии обострения до начала активной противовоспалительной терапии позволил выявить значимые различия между формами ВЗК. У пациентов с активной болезнью Крона, в отличие от больных с активным ЯК, клетки красной крови имели более низкие значения амплитуды деформации, емкости, дипольного момента, скорости поступательного движения клеток к электродам, доли дискоцитов, поляризуемости на большей части частот электрического поля. Кроме того, обобщенные показатели жесткости, вязкости, электропроводности, индексы агрегации, деструкции оказались выше при активной БК, чем в случае активного ЯК. У пациентов с обострением БК оказалось большее число деформированных клеток с измененным характером поверхности, равновесная частота резко сдвинута в высокочастотный диапазон. Наблюдаемые различия, вероятно, связаны с разным патогенезом анемии (преимущественно железодефицитная у лиц с ЯК и анемия воспалительных заболеваний при БК), отличиями в уровнях маркеров воспаления при ЯК и БК и разной степенью их влияния на эритроциты.

Эти закономерности косвенно подтверждаются полученными корреляциями электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с показателями красной

крови, обмена железа, маркерами воспаления, отличающимися по силе и достоверности связи в группах с активными ЯК и БК.

Разнонаправленность уровней параметров эритроцитов у пациентов с неклассифицируемым колитом, вероятно, связана с разнородностью группы, внутри которой верифицировать ЯК или БК с помощью доступных методов на настоящий момент не представляется возможным. В перспективе предполагается установление дифференцирующих значений электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов для групп с ЯК и БК, сопоставление с ними значений у лиц с НКК с последующим отнесением в ту или иную группу. Верификация нозологического диагноза при НКК в процессе динамического наблюдения за пациентами позволит оценит эффективность предложенного диагностического подхода.

3.3 Определение активности воспалительных заболеваний кишечника на основе совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина

3.3.1 Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными стадиями воспалительных заболеваний кишечника

При исследовании электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК (без учета нозологической формы заболевания) в активной и неактивной стадии (таблица 11) обнаружено, что в стадии обострения пациенты имели клетки красной крови меньшего диаметра, с меньшей долей дискоцитов, большей – сфероцитов, деформированных клеток с измененным характером поверхности, чем у лиц группы контроля и больных в стадии ремиссии ($p < 0,0001$). С высокой достоверностью в активной стадии ВЗК эритроциты отличались сниженной способностью к деформации, более высокими значениями

обобщенной вязкости и жесткости по сравнению с группой контроля и пациентами в неактивной стадии ($p < 0,00001–0,0001$).

Таблица 11 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с активными и неактивными ВЗК и лиц группы контроля (M ± SD), (Me [25 %; 75 %])

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с активными ВЗК n = 110 (2)	Группа пациентов с неактивными ВЗК n = 36 (3)	Критерий Манна-Уитни, p	Критерий Краскела-Уоллиса, p
Средний диаметр эритроцита, мкм	7,54 ± 0,07 7,52 [7,48; 7,56]	7,20 ± 0,11 7,24 [7,18; 7,26]	7,42 ± 0,10 7,44 [7,40;7,48]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,00001 $p_{2–3}$ 0,0001	0,00001
Доля дискоцитов, %	74,3 ± 8,19 73 [70;81]	54,30 ± 18,14 57.5[37;67,5]	67,22 ± 15,02 65[58,5;72]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,0006 $p_{2–3}$ 0,017	0,00001
Доля сфероцитов, %	18,83 ± 6,64 18 [13;23]	40,38 ± 17,87 38,5 [25;60]	25,69 ± 15,42 22,5 [19,5;35,5]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,004 $p_{2–3}$ 0,00008	0,00001
Доля деформированных клеток, %	19,98 ± 7,34 18 [16;25]	61,56 ± 15,51 33 [27,5;45]	36,50 ± 17,60 67 [57,5;72]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,00001 $p_{2–3}$0,00001	0,00001
Измененный характер поверхности Er, усл. коэффициент	1,08 ± 0,27 1 [1;1]	1,78 ± 0,42 2 [2;2]	1,28 ± 0,45 1 [1;2]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{2–3}$ 0,0001	0,00001
Амплитуда деформации на частоте 10^6 Гц, м	$8,15·10^{–6}$ ± $0,65·10^{–6}$ 8 [8;9]	$6,13·10^{–6}$ ± $0,50·10^{–6}$ 6 [6;7]	$6,69·10^{–6}$ ± $0,40·10^{–6}$ 7 [6;7]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,00001 $p_{2–3}$ 0,0006	0,00001
Степень изменения амплитуды	75,38 ± 7,17 75 [69;81]	49,34 ± 10,49 49 [41;57]	60,50 ± 9,08 57 [53,5;62,5]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,00001	0,00001

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с активными ВЗК n = 110 (2)	Группа пациентов с неактивными ВЗК n = 36 (3)	Критерий Манна-Уитни, p	Критерий Краскела-Уоллиса, p
деформации на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, %				$p_{2–3}$ 0,0001	
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	$6,49 \cdot 10^{-6} \pm 0,9 \cdot 10^{-6}$ 7 [6;7]	$9,53 \cdot 10^{-6} \pm 0,48 \cdot 10^{-6}$ 10 [9;10]	$8,90 \cdot 10^{-6} \pm 0,57 \cdot 10^{-6}$ 9 [9;9]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,00001 $p_{2–3}$ 0,0001	0,00001
Обобщенный показатель вязкости, Па·с	0,57 ± 0,07 6 [5;6]	0,743 ± 0,031 7 [7;8]	0,703 ± 0,031 7 [7;7]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,00001 $p_{2–3}$ 0,021	0,00001
Индекс агрегации Er, усл. коэффициент	0,40 ± 0,2 0 [0;0]	0,70 ± 0,5 0 [0;0]	0,60 ± 0,2 0 [0;0]	p > 0,1	0,7865
Индекс деструкции Er при 10^6 Гц, %	0,11 ± 0,45 0 [0;0]	0,67 ± 1,43 0 [0;0]	0,17 ± 0,58 0 [0;0]	p > 0,1	0,0242
Индекс деструкции Er при $0,5 \times 10^6$ Гц, %	0,11 ± 0,34 0 [0;0]	0,66 ± 1,42 0 [0;0]	0,17 ± 0,72 0 [0;0]	p > 0,1	0,0119
Индекс деструкции Er при $0,1 \times 10^6$ Гц, %	0,04 ± 0,3 0 [0;0]	0,64 ± 1,39 0 [0;0]	0,40 ± 0,93 0 [0;0]	$p_{1–2}$ 0,028	0,0023
Индекс деструкции Er при $0,05 \times 10^6$ Гц, %	0,02 ± 0,15 0 [0;0]	0,70 ± 1,79 0 [0;0]	0,38 ± 0,88 0 [0;0]	p > 0,1	0.0211
Поляризуемость на частоте 10^6 Гц, $м^3$	$6,58 \cdot 10^{-15} \pm 2,07 \cdot 10^{-15}$ 6 [5;8]	$3,71 \cdot 10^{-15} \pm 0,29 \cdot 10^{-15}$ 4 [3;6]	$5,40 \cdot 10^{-15} \pm 0,30 \cdot 10^{-15}$ 4 [2,5;5]	$p_{1–2}$ 0,00001 $p_{1–3}$ 0,00001 $p_{2–3}$ 0,0001	0,00001
Поляризуемость на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, $м^3$	$4,76 \cdot 10^{-15} \pm 2,35 \cdot 10^{-15}$ 4 [3;6]	$4,59 \cdot 10^{-15} \pm 2,84 \cdot 10^{-15}$ 4 [2;6]	$4,97 \cdot 10^{-15} \pm 2,71 \cdot 10^{-15}$ 4 [3;6]	p > 0,1	0,4320
Поляризуемость на частоте $0,1 \times 10^6$ Гц,	$–3,59 \cdot 10^{-15} \pm 2,59 \cdot 10^{-15}$	$–4,78 \cdot 10^{-15} \pm 3,08 \cdot 10^{-15}$	$–4,06 \cdot 10^{-15} \pm 2,16 \cdot 10^{-15}$	$p_{1–2}$ 0,0019	0,0098

Показатели	Группа контроля, n = 53 (1)	Группа пациентов с активными ВЗК n = 110 (2)	Группа пациентов с неактивными ВЗК n = 36 (3)	Критерий Манна-Уитни, p	Критерий Краскела-Уоллиса, p
$м^3$	2 [2;5]	4 [3;5,5]	4 [2;5]		
Поляризуемость на частоте $0,05 \times 10^6$ Гц, $м^3$	$-4,95 \cdot 10^{-15} \pm 2,12 \cdot 10^{-15}$ 4 [4;6]	$-4,34 \cdot 10^{-15} \pm 3,28 \cdot 10^{-15}$ 3 [2;4,5]	$-3,91 \cdot 10^{-15} \pm 2,17 \cdot 10^{-15}$ 4 [2;4]	p_{1-2} 0,0006 p_{1-3} 0,022	0,0016
Относительная поляризуемость	0,93 ± 0,33 1 [1;1]	1,19 ± 0,66 1 [1;1]	1,30 ± 0,62 1 [1;1,5]	p > 0,1	0,2320
Электропроводность, см/м	$5,1 \cdot 10^{-5} \pm 0,54 \cdot 10^{-5}$ 5 [5;5]	$7,69 \cdot 10^{-5} \pm 1,26 \cdot 10^{-5}$ 8 [6,5;9]	$5,99 \cdot 10^{-5} \pm 0,92 \cdot 10^{-5}$ 6 [6;6]	p_{1-2} 0,00001 p_{13} 0,00001 p_{2-3} 0,00001	0,00001
Емкость клеточной мембраны, Ф	$7,26 \cdot 10^{-14} \pm 0,53 \cdot 10^{-14}$ 7 [7;8]	$4,81 \cdot 10^{-14} \pm 3,58 \cdot 10^{-14}$ 4 [2;7]	$6,99 \cdot 10^{-14} \pm 2,13 \cdot 10^{-14}$ 6,5 [6;8]	p_{1-2} 0,0001 p_{1-3} 0,092 p_{2-3} 0,0035	0,0001
Скорость движения Er к электродам, мкм/с	7,75 ± 1,07 8[7;8]	3,71 ± 0,84 4[3;4]	4,78 ± 0,81 5[4;5]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001 p_{2-3} 0,0001	0,00001
Равновесная частота, Гц	$0,49 \cdot 10^6 \pm 0,07 \cdot 10^6$ 1 [0;1]	$1,14 \cdot 10^6 \pm 0,44 \cdot 10^6$ 1 [0;1]	$0,43 \cdot 10^6 \pm 0,31 \cdot 10^6$ 0 [0;0,5]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,05 p_{2-3} 0,0039	0,0024
Дипольный момент, Кл/м	$7,59 \cdot 10^{-21} \pm 0,99 \cdot 10^{-21}$ 8 [7;8]	$4,21 \cdot 10^{-21} \pm 0,96 \cdot 10^{-21}$ 4 [3;5]	$5,85 \cdot 10^{-21} \pm 1,05 \cdot 10^{-21}$ 6 [5;6]	p_{1-2} 0,00001 p_{1-3} 0,00001	0,00001

Индексы агрегации, деструкции в стадии обострения ВЗК имели тенденцию к повышению, но уровня достоверности различия не достигали. Поляризуемость на всех частотах у пациентов с активными ВЗК оказалась ниже показателей в неактивной фазе и в контроле, при этом на частоте 10^6 Гц различия между

группами оказались высокодостоверными (p < 0,00001–0,0001). Стадия обострения у пациентов с ВЗК ассоциирована с более высокими уровнями электропроводности и более низкими показателями скорости движения к электродам, дипольного момента, емкости по сравнению со здоровыми лицами и пациентами в стадии ремиссии (p < 0,00001). Равновесная частота оказалась резко сдвинутой в высокочастотный диапазон при активных ВЗК по сравнению с неактивными (p = 0,0039). На рисунке 5 представлены уровни электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными стадиями ВЗК.

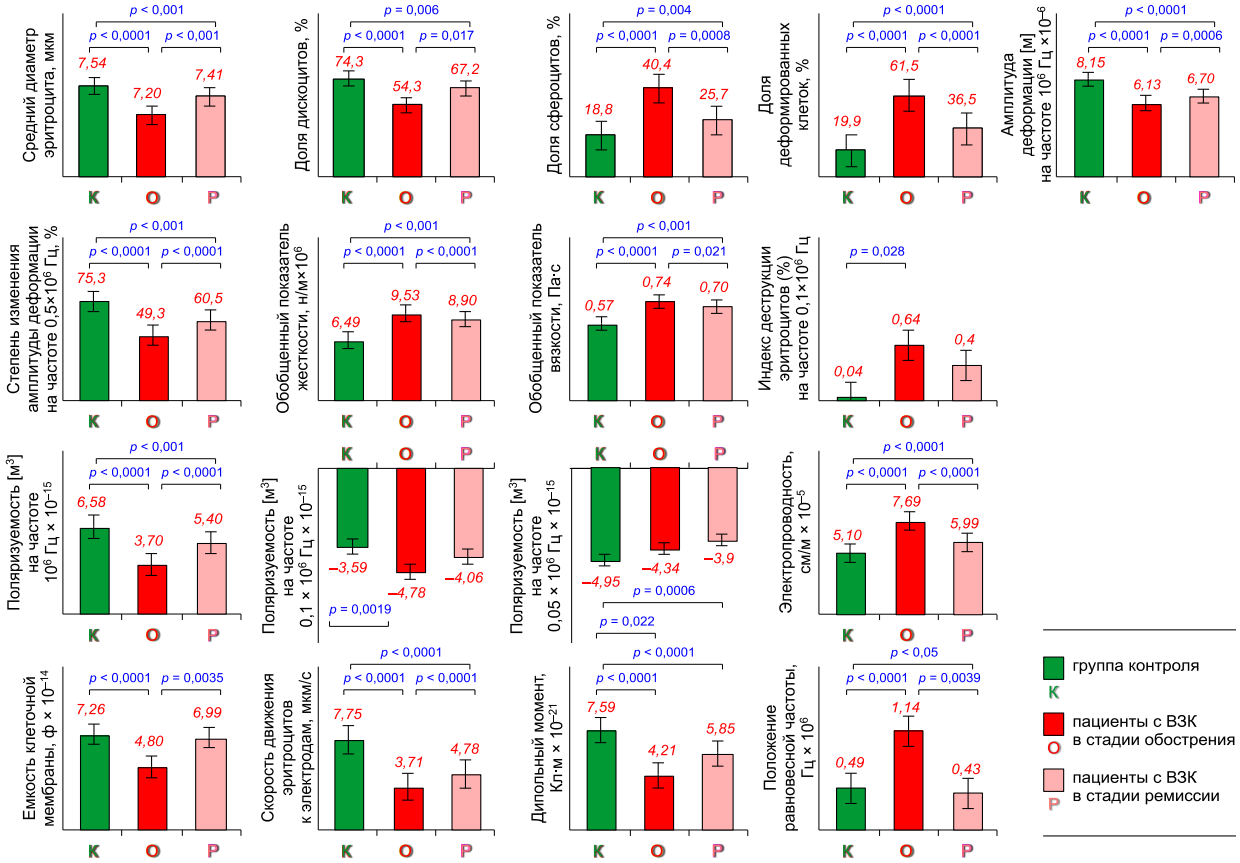


Рисунок 5 – Уровни электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными стадиями ВЗК

У лиц группы контроля, пациентов с разными стадиями ВЗК были определены значения биомаркера кишечного воспаления фекального

кальпротектина:в контрольной группе его величины находились в пределах от 2 до 50 мкг/г, в стадии обострения ВЗК – более 200 мкг/г, в стадии ремиссии ВЗК – от 51 до 200 мкг/г.

3.3.2 Описание способа диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника на базе комплексного использования электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина

На основании вышеописанных результатов был предложен способ диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника на основе совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина.

Из перечня электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов определены восемь параметров, которые обеспечили разделение между группами «активное ВЗК», «ремиссия ВЗК», «контроль», определены их дифференцирующие значения (таблица 12).

Таблица 12 – Дифференцирующие значения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, фекального кальпротектина для пациентов с ВЗК с разными стадиями заболевания и лиц группы контроля

Группы	Средний диаметр эритроцита x_1 ($D_{ср}$), м	Скорость поступательного движения клетки в эл. поле x_2 ($\vec{v}_{кл}$), мкм/с	Поляризуемость ($\alpha_{кл}$) на частоте 10^6 Гц, x_3, м^3	Равновесная частота x_4 ($f_р$), Гц	Электропроводность x_5 (σ), См/м	Обобщенный показатель вязкости x_6 ($\eta_{кл}$), Па·с	Обобщенный показатель жесткости x_7 ($c_{кл}$), Н/м	Амплитуда деформации x_8 (А), м	Фекальный кальпротектин x_9, мкг/г
Группа контроля	$7{,}5\cdot10^{-6} \div 7{,}7\cdot10^{-6}$	6,7 ÷ 8,8	$6{,}3\cdot10^{-15} \div 7{,}5\cdot10^{-15}$	$4{,}6\cdot10^{5} \div 5{,}6\cdot10^{5}$	$4{,}6\cdot10^{-5} \div 5{,}1\cdot10^{-5}$	0,50 ÷ 0,64	$5{,}6\cdot10^{-6} \div 9{,}1\cdot10^{-6}$	$7{,}5\cdot10^{-6} \div 8{,}8\cdot10^{-6}$	2 ÷ 50
Группа пациентов с активными ВЗК	$7{,}1\cdot10^{-6} \div 7{,}3\cdot10^{-6}$	2,8 ÷ 3,9	$3{,}4\cdot10^{-15} \div 4{,}0\cdot10^{-15}$	$9{,}7\cdot10^{5} \div 12{,}8\cdot10^{5}$	$6{,}9\cdot10^{-5} \div 8{,}9\cdot10^{-5}$	0,73 ÷ 0,77	$9{,}5\cdot10^{-6} \div 10{,}0\cdot10^{-6}$	$5{,}6\cdot10^{-6} \div 6{,}3\cdot10^{-6}$	Более 200
Группа пациентов с неактивными ВЗК	$7{,}3\cdot10^{-6} \div 7{,}5\cdot10^{-6}$	4,6 ÷ 5,6	$5{,}1\cdot10^{-15} \div 5{,}7\cdot10^{-15}$	$3{,}9\cdot10^{5} \div 4{,}2\cdot10^{5}$	$5{,}1\cdot10^{-5} \div 6{,}9\cdot10^{-5}$	0,67 ÷ 0,71	$8{,}3\cdot10^{-6} \div 9{,}1\cdot10^{-6}$	$6{,}3\cdot10^{-6} \div 7{,}1\cdot10^{-6}$	51 ÷ 200

Предложенный способ диагностики активности ВЗК основывается на определении следующих параметров эритроцитов с помощью метода диэлектрофореза [7] с использованием оригинальной вычислительной программы.

Средний диаметр эритроцита

$$x_1 = D_{ср} = (D_1 + D_2 + \cdots + D_n)/n, \qquad (2)$$

где D_1 – диаметр первой клетки;

D_2 – диаметр второй клетки;

D_n – диаметр n-й клетки;

n – количество клеток.

Скорость поступательного движения эритроцита в электрическом поле

$$x_2 = \vec{v}_{кл} = S / t, \qquad (3)$$

где S – расстояние, пройденное клеткой за время t.

Поляризуемость

$$x_3 = a = 3\frac{\pi \cdot \eta_{ср} \cdot v_{кл} \cdot D_{ср}}{|\nabla E^2|}, \qquad (4)$$

где $|\nabla E^2|$ – модуль квадрата градиента напряженности электрического поля между электродами измерительной ячейки.

Равновесная частота

$$x_4 = \omega_{p1} = (f_p). \tag{5}$$

Электропроводность эритроцита

$$x_5 = \sigma = \frac{1}{R_{кл}} = \frac{1}{R_{ср}} \tag{6}$$

где $R_{кл}$ – сопротивление клетки;

$R_{ср}$ – сопротивление среды.

Обобщенный показатель вязкости эритроцита

$$x_6 = \eta_{кл} = -\frac{c_{кл} \cdot \tau_и}{6 \cdot \pi \cdot r_{кл} \cdot \ln|x_m|}, \tag{7}$$

где $c_{кл}$ – обобщенный показатель жесткости эритроцита;

$\tau_и$ – длительность зондирующего радиоимпульса;

π – постоянная величина равная 3,14;

$r_{кл}$ – радиус клетки в электрическом поле;

x_m – максимальная амплитуда деформации клетки.

Обобщенный показатель жесткости клетки

$$x_7 = c_{кл} = \frac{\alpha_{кл}\varepsilon_o E^2}{2 r_{кл} x_m}, \tag{8}$$

где $\alpha_{кл}$ – поляризуемость клетки;

ε_o – диэлектрическая постоянная равная $8{,}85 \cdot 10^{-12}$;

E – напряженность электрического поля;

$r_{кл}$ – радиус клетки в электрическом поле;

x_m – амплитуда деформации клетки.

Максимальная амплитуда деформации клетки

$$x_8 = A = x_m = -\frac{D_{кл}^m - D_{кл}^0}{2}, \qquad (9)$$

где $D_{кл}^0$ – начальный диаметр клетки, до включения неоднородного переменного электрического поля (НПЭП);

$D_{кл}^m$ – максимальный диаметр клетки при включенном НПЭП.

После определения восьми выбранных параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина у конкретного пациента их сравнивают с соответствующими дифференцирующими значениями. При попадании более 60 % параметров в диапазон показателей конкретной группы (контроль, обострение ВЗК, ремиссия ВЗК), указанных в таблице 12, с высокой диагностической точностью делают вывод об обострении ВЗК, ремиссии ВЗК или отсутствии ВЗК.

Диагностическая эффективность предлагаемого малоинвазивного способа определения наличия активности ВЗК и его пригодность для практического применения подтверждается сравнением с результатами биохимических, инструментальных исследований, проведенных у пациентов с ВЗК. Результаты оценки приведены в таблице 13. Исходя из полученных данных, по формулам, приведенным в [256], были получены следующие показатели диагностической эффективности: чувствительность заявленного способа составила 91,9 %, специфичность – 93,1 %, показатель прогностической ценности «плюс» результата (т.е. выявление случаев с активными ВЗК) – 96,6 %, показатель

прогностической ценности «минус» результата – 84,3 %, индекс точности составил 92,3 %.

Таблица 13 – Результаты оценки обобщенного анализа данных исследования вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов в сочетании с уровнем фекального кальпротектина по сравнению с данными биохимических, инструментальных обследований

Обобщенный анализ данных исследования вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов в сочетании с уровнем фекального кальротектина	Результаты биохимических, инструментальных обследований	
	Активные ВЗК *n* = 62 случаев	Неактивные ВЗК *n* = 29 случаев
Активные ВЗК *n* = 59 случаев	Истинно положительные Активные ВЗК *n* = 57	Ложно положительные Неактивные ВЗК *n* = 2
Неактивные ВЗК *n* = 32 случаев	Ложно отрицательные. Активные ВЗК *n* = 5	Истинно положительные Неактивные ВЗК *n* = 27

Данные результаты свидетельствуют о том, что данный малоинвазивный способ эффективен и пригоден в определении активности воспалительных заболеваний кишечника.

По предложенному способу был оформлен патент на изобретение, 26.03.2021 из ФИПС получен документ о приоритете заявки.

Проведение ROC-анализа с целью оценки диагностической точности различения активного ВЗК от стадии ремиссии при использовании только электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов позволило получить AUC – 0,834, чувствительность – 82 %, специфичность – 78 %. При использовании **только** уровня фекального кальпротектина (cut-off более 50 мкг/г) AUC составила 0,871 с чувствительностью 87 %, специфичностью 83 % (рисунок 6). Полученные

результаты демонстрируют преимущество по диагностической точности **совокупного** использования электрических, вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина в различении стадий ВЗК.

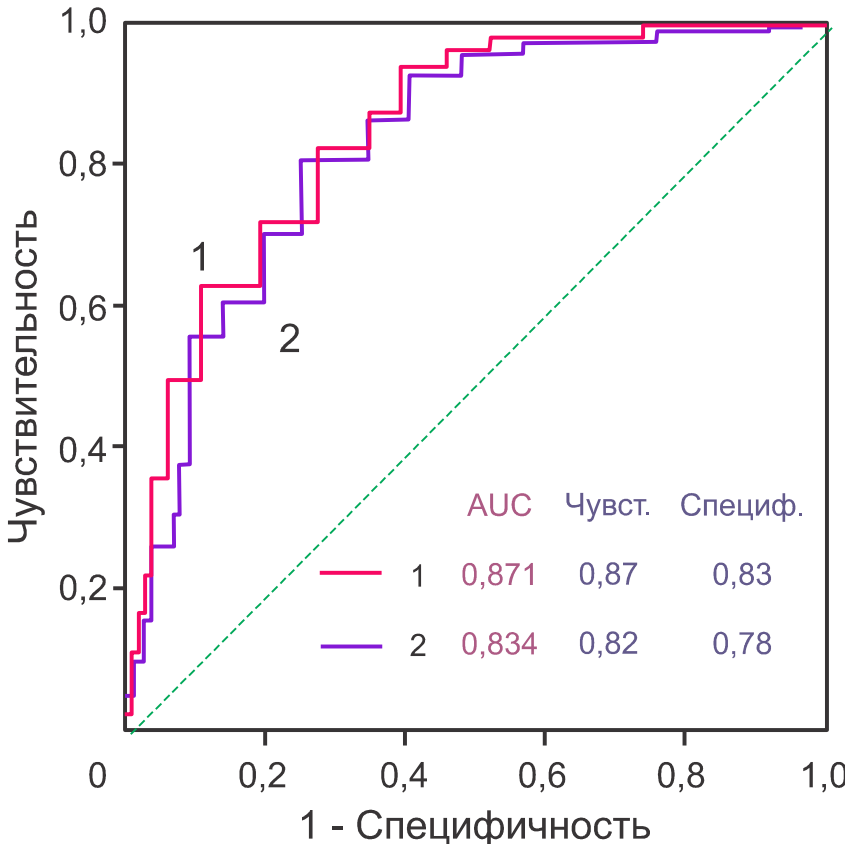


Рисунок 6 – ROC-анализ при использовании только уровней фекального кальпротектина (кривая 1) и только электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов (кривая 2) в различении активного ВЗК от стадии ремиссии заболевания

3.3.3 Клинические примеры осуществления способа определения активности воспалительных заболеваний кишечника

Ниже приведены клинические примеры применения малоинвазивного способа определения активности ВЗК, демонстрирующие возможность эффективного

использования вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов в сочетании с уровнем фекального кальпротектина в диагностической практике для установления статуса заболевания у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника с неясной активностью.

Клинический пример 1

Пациент Н., 27 лет, программист, обратился по поводу слабости, субфебрилитета, эпизодов жидкого стула 2–3 раза в день с примесью слизи. Со слов больного, ухудшение состояния связано с психо-эмоциональными перегрузками в течение последней недели.

В течение 5 лет наблюдается по поводу болезни Крона с поражением илеоцекальной зоны, дебютом с 18-летнего возраста, с минимальной персистирующей активностью, с УЗ-признаками стриктуры в терминальном отделе подвздошной кишки, с длительным субфебрилитетом, эпизодом повышения уровня фекального кальпротектина до 600 мкг/г, быстрым снижением массы тела на 10 кг, гиполактазией взрослого типа, синдромом избыточного бактериального роста с выраженным метеоризмом и флатуленцией.

Возникла необходимость в проведении дифференциального диагноза между вторичной энтеропатией вследствие СИБР и гиполактазии и возможной активной болезнью Крона с протяженным поражением тонкой кишки с синдромом мальабсорбции и дефицитом жирорастворимых витаминов, витамина B_{12}, фолиевой кислоты, магния.

На момент обращения пациент не принимал лекарственных препаратов, придерживался диеты.

При осмотре язык с минимальным беловатым налетом. Живот мягкий, печень, селезенка – без особенностей. Отмечена минимальная болезненность по ходу сигмовидной кишки и терминального отдела подвздошной кишки. Дополнительных образований, симптомов тревоги нет.

Состав крови больного на момент обращения: количество эритроцитов – $5{,}03 \cdot 10^{12}$ /л; содержание гемоглобина – 157 г/л; цветовой показатель – 0,96;

количество лейкоцитов – $5{,}9 \cdot 10^9$ /л, формула не изменена; количество тромбоцитов – $285 \cdot 10^9$ /л; СОЭ – 3 мм/ч; гликемия натощак – 5,1 ммоль/л; общий билирубин – 17,0 мкмоль/л; связанный (прямой) билирубин – 3,2 мкмоль/л; свободный (непрямой) билирубин – 13,8 мкмоль/л; щелочная фосфатаза (ЩФ) – 154,6 U/1 (норма до 290 U/1); гамма-глутамилтранспептидаза (ГГТП) – 18,5 U/1(норма до 49 U/1); АЛТ – 21 U/1 (норма до 40 U/1); АСТ – 23 U/1 (норма до 37 U/1); общий белок – 72 г/л; мочевина – 5,5 мг/дл; фибриноген – 2,8 г/л; СРБ – 0,3 мг/л.

По данным УЗИ выявлены деформация в области шейки желчного пузыря. При гастроскопии выявлены признаки очагового хронического гастрита антрального отдела (степень 0–1) без атрофии желез (стадия 0).

На ЭКГ выявлены умеренные метаболические изменения миокарда.

По данным эндовидеоколоноскопии патологических изменений терминального отдела подвздошной кишки и толстого кишечника не обнаружено. Гистологическое исследование выявило картину хронического проктита вне обострения (степень 0–1). Исследование тонкого и толстого кишечника с помощью метода гидро-МРТ позволило выявить МР-признаки терминального илеита, баугинита. УЗИ кишечника позволило установить наличие УЗИ-признаков трансмурального воспаления терминального отдела подвздошной кишки.

В связи с наличием диссонанса в результатах обследований возникли вопросы по поводу активности заболевания.

Пациенту проведено исследование параметров x1-x8 эритроцитов и определение уровня фекального кальпротектина x9 методом ИФА (R-Biopharm, Германия). Полученные данные сравнивали с дифференцирующими значениями электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, фекального кальпротектина у группы контроля и групп с активными и неактивными ВЗК (см. таблицу 12).

Результаты исследований показали, что средний диаметрэритроцитов D (x_1) находился в пределах значений для группы контроля ($7{,}5\cdot10^{-6} \div 7{,}7\cdot10^{-6}$) м и составлял 7,58 10^{-6} м. Деформабильность эритроцитов была снижена, при частоте (f) равной 1 МГц и напряжении (U), равном 10 В, амплитуда деформации (A) эритроцитов (x_8) составляла $6{,}71\cdot10^{-6}$ м, что находилось в границах величин для группы пациентов с неактивным ВЗК ($6{,}3\cdot10^{-6} \div 7{,}1\cdot10^{-6}$) м. Поляризуемость ($\alpha_{кл}$) на частоте 10^6 Гц (x_3) составила $6{,}3\cdot10^{-15}$ м^3, что входило в границы значений для контроля ($6{,}3\cdot10^{-15} \div 7{,}5\cdot10^{-15}$) м^3. Равновесная частота f_p (x_4) находилась в низкочастотном диапазоне и составляла $4{,}1\cdot10^4$ Гц, и входила в границы значений для группы пациентов с неактивным ВЗК ($3{,}9\cdot10^4 \div 4{,}2\cdot10^4$) Гц. Скорость поступательного движения $\vec{v}_{кл.}$ эритроцитов к электродам (x_2) составляла 5,1 мкм/с и находилась пределах значений для группы пациентов с ВЗК в стадии ремиссии (4,6 ÷ 5,6) мкм/с. Электропроводность клетки σ (x_5) повышена и составляла $6{,}42\cdot10^{-5}$ см/м, входя в границы значений для неактивного ВЗК ($5{,}1\cdot10^{-5} \div 6{,}9\cdot10^{-5}$) см/м. У пациента определены повышенные обобщенные показатели жесткости $c_{кл}$ (x_7) равные $8{,}72\cdot10^{-6}$ Н/м и вязкости $\eta_{кл}$ (x_6) равных 0,68 Па·с, что соответствовало значениям для группы пациентов с неактивным ВЗК ($8{,}3\cdot10^{-6} \div 9{,}1\cdot10^{-6}$) Н/м для жесткости и (0,67 ÷ 0,71) Па·с для вязкости, соответственно).

Уровень фекального кальпротектина (x_9), составивший 60 мкг/г, находился в пределах границ значений для пациентов с неактивным ВЗК (51 ÷ 200) мкг/г.

Таким образом, у обследуемого 7 исследованных показателей из 9 находились в пределах значений для группы пациентов с неактивным ВЗК, что составило 77,8 % (т. е. более 60 %), что позволило сделать заключение о высокой вероятности отсутствия активности заболевания у данного пациента. Определенные впоследствии уровни таких маркеров воспаления как высокочувствительного С-реактивного протеина, составившего 3 мг/л (норма менее 5 мг/л), и ферритина, составившего 110 мкг/л (норма 20–250 мкг/л), подтвердила полученные данные о стадии ремиссии заболевания.

Клинические проявления у пациента с высокой вероятностью обусловлены СРК-подобным расстройством на фоне ремиссии болезни Крона и не требуют назначения противовоспалительной иммуносупрессивной терапии.

Клинический пример 2

Пациент С., 42 года, обратился по поводу проявлений астенического синдрома, периодически – кашицеобразного стула (3–4 раза в сутки) без патологических примесей (со слов больного). С 2001 года страдает язвенным колитом, левосторонним, с рецидивирующим течением с системными проявлениями – серонегативным спондилоартритом, сакроилеитом, коксартрозом с эпизодами высокой активности в 2012 году. Стаж болезни составил 17 лет. Последний раз колоноскопия была выполнена 6 лет назад. Отмечен низкий комплайенс (с 2012 года пациент не наблюдается, практически не лечится). Кроме того, выявлена плохая переносимость сульфасалазина.

Пациенту рекомендовано комплексное обследование в связи с необходимостью назначения терапии, в рамках которого было проведено исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов.

Пациенту проведено исследование параметров x1-x8 эритроцитов.

Исследование показало,что эритроциты имели параметры, уровень которых значительно отличался от таковых в контрольной группе. Средний диаметр $D_{ср}$ эритроцита (x_1) составлял $7{,}50\cdot10^{-6}$ м, находясь в пределах значений для группы с неактивным ВЗК ($7{,}3\cdot10^{-6} \div 7{,}5\cdot10^{-6}$) м. Поляризуемость на частоте 10^6 Гц ($\alpha_{кл}$)(x_3) составила $5{,}2\cdot10^{-15}$ м^3, входя в границы значений для ВЗК в стадии ремиссии – ($5{,}1\cdot10^{-15} \div 5{,}7\cdot10^{-15}$) м^3. Эритроциты обладали сниженной пластичностью. Амплитуда деформации (А) эритроцитов (x_8) составляла $5{,}72\cdot10^{-6}$ м, что входило в пределы значений пациентов с активностью заболевания ($5{,}6\cdot10^{-6} \div 6{,}3\cdot10^{-6}$) м на фоне повышенного обобщенного показателя вязкости $\eta_{кл}$ (x_6), равного 0,75 Па·с (что находилось в границах значений для пациентов с активным ВЗК – (0,73 ÷ 0,77) Па·с, как и обобщенного показателя жесткости $c_{кл}$(x_7), равного $9{,}71\cdot10^{-6}$ Н/м, значение которого также находилось в границах величин для

активного заболевания – $(9{,}5\cdot10^{-6} \div 10{,}0\cdot10^{-6})$ Н/м. Была выявлена повышенная электропроводность клеток (x_5) σ равная $6{,}96\cdot10^{-5}$ см/м, отражающая выраженные изменения ее структуры. Значения электропроводности также входили в границы значений для пациентов с наличием активности ВЗК – $(6{,}9\cdot10^{-5} \div 8{,}9\cdot10^{-5})$ см/м.

Эритроциты обладали низким поверхностным зарядом, который «экранируется» крупномолекулярными воспалительными белками, иммуноглобулинами, иммунными комплексами, связанными с наличием у пациента иммуно-воспалительного синдрома. Это отражали низкие показатели скорости поступательного движения эритроцитов $\vec{v}_{кл.}$ к электродам (x_2) равную 3,8 мкм/с, значения которой входили в диапазон значений для активных ВЗК – (2,8 ÷ 3,9) мкм/с. Равновесная частота f_p (x_4) была резко смещена в высокочастотный диапазон и составила $12{,}5\cdot10^5$ Гц, отражая степень токсического воздействия на эритроциты. Эта величина также находилась в пределах значений для пациентов с активным ВЗК – $(9{,}7\cdot10^5 \div 12{,}8\cdot10^5)$ Гц. Уровень фекального кальпротектина (x_9), составивший 262 мкг/г, находился в пределах значений для пациентов с активными ВЗК (более 200 мкг/г).

Таким образом, у обследуемого 7 исследованных показателей из 9 находились в пределах значений для группы пациентов с активным ВЗК, что составило 77,8 % (т.е. более 60 %), что свидетельствовало о наличии обострения язвенного колита у данного пациента. Отклоняющиеся параметры, входящие в пределы значений для группы пациентов с неактивным ВЗК, средний диаметр эритроцита и поляризуемость на частоте 10^6 Гц, возможно, изменяются в более отдаленные сроки от начала обострения. Данные, полученные при исследовании вязкоупругих параметров эритроцитов, были подтверждены маркерами активного воспаления – высокими уровнями высокочувствительного С-реактивного белка 28 мг/л (норма менее 5 мг/л), лейкоцитов $12{,}7\cdot10^9$ /л (норма 4,2 до 9×10^9 /л), СОЭ 21 мм/ч (норма 0–15 мм/ч), низким уровнем гемоглобина 94 г/л (норма 130–160 г/л).

Полученные результаты стали дополнительным аргументом для направления пациента на колоноскопию. Проведение эндоскопического исследования также было показано с целью скрининга КРР ввиду длительного стажа заболевания. Активная стадия ЯК была подтверждена при колоноскопии. Пациент возобновил противовоспалительную терапию.

Резюме

Таким образом, выявлены достоверные различия в уровнях электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК в зависимости от стадии заболевания: активность ВЗК ассоциирована с более низкими уровнями среднего диаметра эритроцитов, поляризуемости, амплитуды деформации клеток, емкости мембран, скорости поступательного движения к электродам, дипольного момента, доли дискоцитов, и, напротив, более высокими – доли деформированных, сфероцитарных форм с измененным характером поверхности, электропроводности, обобщенными показателями вязкости, жесткости, индекса деструкции ($p < 0,0001–0,05$). Равновесная частота смещена в высокочастотный диапазон у пациентов с активными ВЗК по сравнению с неактивными ($p = 0,0039$).

Установлены дифференцирующие значения для ряда параметров эритроцитов: среднего диаметра клетки; поляризуемости на частоте 10^6 Гц; скорости поступательного движения к электродам; амплитуды деформации на частоте 10^6 Гц; обобщенных показателей вязкости, жесткости, электропроводности; положения равновесной частоты и уровня фекального кальпротектина для различения пациентов с ВЗК в стадии обострения и ремиссии.

Данные результаты свидетельствуют о том, что предложенный малоинвазивный способ, основанный на комбинированном использовании электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов (среднего диаметра клетки, поляризуемости на частоте 10^6 Гц, скорости поступательного движения к электродам, амплитуды деформации на частоте 10^6 Гц, обобщенных показателей

вязкости, жесткости, электропроводности, положения равновесной частоты) и уровня фекального кальпротектина эффективен и пригоден в определении активности воспалительных заболеваний кишечника. Метод обеспечил достаточную диагностическую точность: чувствительность 91,9 %, специфичность – 93,1 %, индекс точности 92,3 %. Диагностическая эффективность предложенного способа превосходит точность различения стадий ВЗК при использовании по отдельности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов (AUC – 0,834; чувствительность – 82 %; специфичность – 78 %) и уровней фекального кальпротектина (AUC – 0,871; чувствительность – 87 %; специфичность – 83 %).

Преимущество предложенного способа заключается в том, что он позволяет в короткие сроки установить активность ВЗК для определения тактики лечения. Малоинвазивный характер метода предотвращает возможные осложнения эндоскопического исследования у пациентов с активным ВЗК. Пациенту не требуется госпитализация. Оценка параметров эритроцитов объективна и не зависит от квалификации и опыта специалиста, производящего данные исследования. Способ позволяет установить наличие обострения или ремиссии независимо от варианта воспалительного заболевания кишечника. Используются недорогие общедоступные реактивы, тем самым повышается доступность данного способа для массовой диагностики. У способа низкие трудоемкость и стоимость. Высокая чувствительность, специфичность и четкие критерии оценки наличия активности ВЗК, высокая диагностическая точность повышают ценность заявленного способа. Ограничения для его применения, связанные с физическим и психологическим состоянием пациента, отсутствуют.

3.4 Параметры эритроцитов как прогностические маркеры течения воспалительных заболеваний кишечника

У 36 пациентов с ВЗК (23 – с язвенным колитом, 8 – с болезнью Крона, 5 – с НКК) исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов

проведено дважды в ходе динамического наблюдения за пациентами в течение 6–12 месяцев. У 13 пациентов отмечено сохранение активного заболевания в течение данного периода, в 23 случаях выявлено наступление ремиссии у пациентов, находившихся при первом обследовании в стадии обострения.

Из 23 пациентов, вошедших в ремиссию ВЗК, средний возраст (37,9 ± 4,3) года, оказалось 10 пациентов с язвенным колитом, 9 – с болезнью Крона, 4 – с неклассифицируемым колитом. Первое исследование электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов проведено в стадии обострения до начала терапии. У всех пациентов с ВЗК диагностировано поражение толстой кишки. Преобладали пациенты с рецидивирующим течением заболевания, средняя продолжительность заболевания в группе составила (5,1 ± 3,6) года. По тяжести заболевания преобладали пациенты со среднетяжелым течением – 17 человек (73,9 %) и легким течением (6 пациентов – 23,1 %). При оценке тяжести настоящей атаки, согласно индексу Мейо, у 4 пациентов (17,4 %) (по два пациента с ЯК и НКК) сумма баллов находилась в пределах 3–5, что соответствовало легкой атаке; у большей части больных с ЯК и НКК – десяти человек (43,5 %) индекс находился в пределах от 6 до 9 баллов (среднетяжелая атака). При оценке индекса активности болезни Крона – индекса Беста пациенты в стадии обострения имели средние значения показателя, составляющие (173,2 ± 28,5) балла, что соответствовало легкой атаке.

У большей части обследованных – 16 пациентов (69,6 %) в стадии обострения выявлена анемия легкой и средней степени тяжести, при этом у пациентов с ЯК преобладала железодефицитная анемия, при болезни Крона – анемия воспалительных заболеваний и смешанного генеза. Из внекишечных проявлений ВЗК преобладали артропатии (у 10 пациентов – 43,5 %), у 5 пациентов (21,7 %) выявлен стеатоз печени и стеатогепатит.

Второе исследование параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК проведено через 6–12 месяцев. Пациенты получали терапию кортикостероидами, аминосалицилатами, иммуномодуляторами. К моменту второго обследования

индекс Мейо у пациентов с ЯК и НКК не превышал 2 баллов, у больных с БК индекс Беста составил (135 ± 6,5) балла, что соответствовало ремиссии.

После проведенных в динамике исследований параметров эритроцитов наблюдение за пациентами с ВЗК продолжалось еще в течение последующих 6–12 месяцев с целью оценки сохранения ремиссии или наступления обострения.

Для проверки предиктивных возможностей параметров эритроцитов дополнительно были обследованы 36 пациентов с ВЗК, находившихся в стадии ремиссии в момент первого обследования, средний возраст (38,1 ± 5,7) года, стадия длилась от 6 до 12 месяцев. Из них 13 пациентов с ЯК, 10 – с БК, 13 – с НКК; в 25 (69,4 %) случаях со среднетяжелым рецидивирующим течением, у 11 пациентов – с легким течением. На момент обследования неактивная стадия заболевания подтверждена клинически, эндоскопически, лабораторными тестами и фекальными маркерами. Течение заболевания в данной группе мониторировалось в течение последующего года.

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов в группе пациентов с ВЗК (23 человека) с наступившей ремиссией в ходе динамического наблюдения представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с ВЗК в динамике наблюдения (M± SD), (Me [25 %; 75 %])

Показатели	Пациенты с ВЗК в стадии обострения при наблюдении в динамике, n = 23 (1)	Пациенты с ВЗК в стадии ремиссии при наблюдении в динамике, n = 23 (2)	p
Доля дискоцитов, %	58,0 ± 20,34 65 [47;73]	68,66 ± 19,98 70 [60;85]	0,269
Доля сфероцитов, %	35,89 ± 21,38 24 [21;43]	24,11 ± 20,44 19 [11;23]	0,170

Показатели	Пациенты с ВЗК в стадии обострения при наблюдении в динамике, n = 23 (1)	Пациенты с ВЗК в стадии ремиссии при наблюдении в динамике, n = 23 (2)	p
Доля деформированных клеток, %	65,22 ± 16,46 70 [57;80]	35,44 ± 19,94 28 [21;38]	0,0069
Измененный характер поверхности клеток (усл. коэффициент)	1,74 ± 0,37 2,0 [1,25; 2]	1,21 ± 0,42 1,1 [1;1,2]	0,001
Амплитуда деформации на частоте 10^6 Гц, м	$6{,}04\cdot10^{-6}\pm 0{,}71\cdot10^{-6}$ $6{,}21\cdot10^{-6}$ $[5{,}22\cdot10^{-6}; 6{,}52\cdot10^{-6}]$	$6{,}68\cdot10^{-6}\pm 0{,}52\cdot10^{-6}$ $6{,}74\cdot10^{-6}$ $[6{,}47\cdot10^{-6}; 6{,}91\cdot10^{-6}]$	0,093
Степень изменения амплитуды деформа-ции на частоте $0{,}5 \times 10^6$ Гц, %	50,44 ± 13,48 54 [38;58]	61,78 ± 12,65 64 [57; 73]	0,063
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	$9{,}48\cdot10^{-6}\pm 0{,}63\cdot10^{-6}$ $9{,}51\cdot10^{-6}$ $[9{,}18\cdot10^{-6}; 10{,}12\cdot10^{-6}]$	$8{,}71\cdot10^{-6}\pm 0{,}81\cdot10^{-6}$ $8{,}67\cdot10^{-6}$ $[8{,}44\cdot10^{-6}; 9{,}02\cdot10^{-6}]$	0,042
Обобщенный показатель вязкости, Па с	0,74 ± 0,04 0,74 [0,72; 0.79]	0,70 ± 0,03 0,69 [0,68; 0.72]	0,093
Поляризуемость на частоте 10^6 Гц, $м^3$	$5{,}98\cdot10^{-15} \pm 3{,}67\cdot10^{-15}$ $5{,}67\cdot10^{-15}[2{,}99\cdot10^{-15};6{,}38\cdot10^{-15}]$	$5{,}24\cdot10^{-15} \pm ,43\cdot10^{-15}$ $5{,}34\cdot10^{-15}$ $[4{,}72\cdot10^{-15};5{,}96\cdot10^{-15}]$	0,791
Поляризуемость на частоте $0{,}5 \times 10^6$ Гц, $м^3$	$5{,}35\cdot10^{-15} \pm 4{,}24\cdot10^{-15}$ $4{,}74\cdot10^{-15}[2{,}13\cdot10^{-15};5{,}93\cdot10^{-15}]$	$5{,}24\cdot10^{-15} \pm 3{,}07\cdot10^{-15}$ $3{,}9\cdot10^{-15}$ $[2{,}95\cdot10^{-15}; 8{,}56\cdot10^{-15}]$	0,929
Поляризуемость на частоте $0{,}1 \times 10^6$ Гц, $м^3$	$-6{,}06\cdot10^{-15}\pm 4{,}23\cdot10^{-15}$ $-4{,}99\cdot10^{-15}$ $[-3{,}14\cdot10^{-15};-7{,}99\cdot10^{-15}]$	$-4{,}23\cdot10^{-15}\pm 2{,}48\cdot10^{-15}$ $-4{,}13\cdot10^{-15}$ $[-2{,}82\cdot10^{-15};-5{,}2\cdot10^{-15}]$	0,536
Поляризуемость на частоте $0{,}05 \times 10^6$ Гц, $м^3$	$-5{,}20\cdot10^{-15}\pm 4{,}30\cdot10^{-15}$ $-3{,}04\cdot10^{-15}$ $[-2{,}33\cdot10^{-15}; -5{,}36\cdot10^{-15}]$	$-4{,}24\cdot10^{-15}\pm 2{,}62\cdot10^{-15}$ $-3{,}71\cdot10^{-15}$ $[-2{,}11\cdot10^{-15}; -5{,}35\cdot10^{-15}]$	0,859

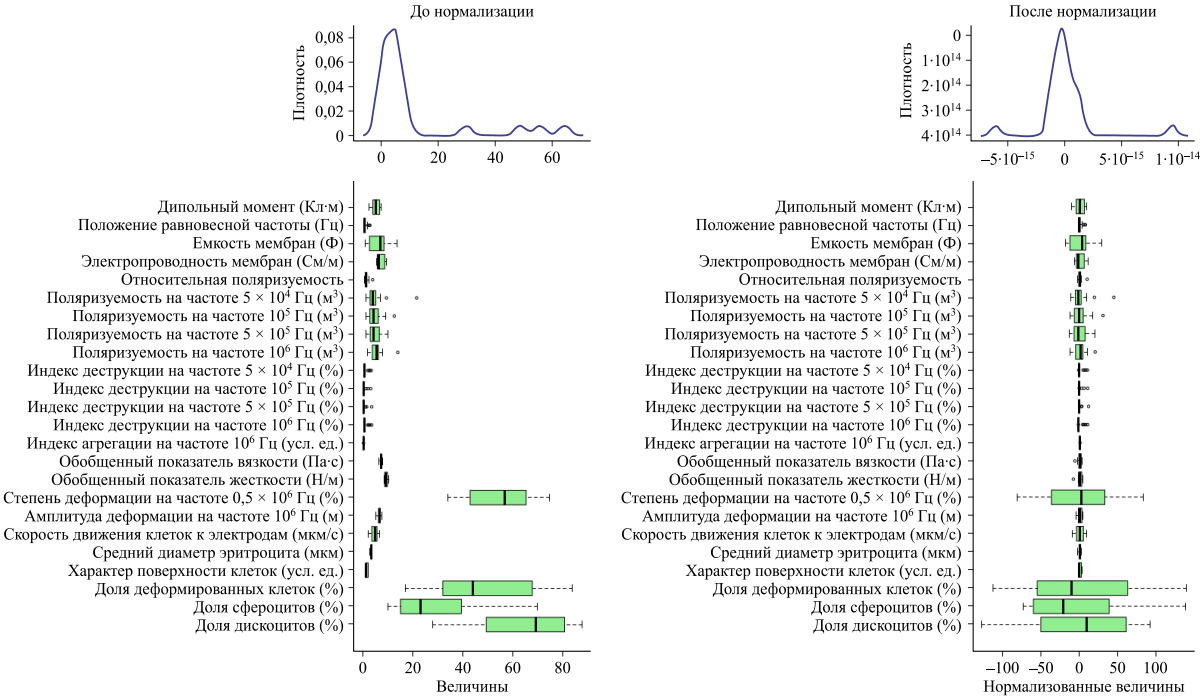
Показатели	Пациенты с ВЗК в стадии обострения при наблюдении в динамике, n = 23 (1)	Пациенты с ВЗК в стадии ремиссии при наблюдении в динамике, n = 23 (2)	p
Относительная поляризуемость	1,31± 1,06 0,92 [0,74; 1.12]	1,27± 0,41 1,15 [1,09;1.44]	0,251
Электропроводность, См/м	$8,19\cdot10^{-5}\pm 1,07\cdot10^{-5}$ $8,64\cdot10^{-5}$ [$7,23\cdot10^{-5}$; $9,12\cdot10^{-5}$]	$6,42\cdot10^{-5}\pm 1,62\cdot10^{-5}$ $5,71\cdot10^{-5}$ [$5,42\cdot10^{-5}$; $6,23\cdot10^{-5}$]	0,042
Емкость клеточной мембраны, Ф	$3,47\cdot10^{-14}\pm 2,95\cdot10^{-14}$ $3,7\cdot10^{-14}$ [$3,4\cdot10^{-14}$; $4,6\cdot10^{-14}$]	$6,20\cdot10^{-14}\pm 3,05\cdot10^{-14}$ $6,84\cdot10^{-14}$[$5,04\cdot10^{-14}$; $7,78\cdot10^{-14}$]	0,111
Скорость движения Er к электродам, мкм/с	3,77± 0,87 4 [3;5]	4,69± 1,05 4,9 [4,1;5,1]	0,063
Равновесная частота, Гц	$1,28\cdot10^{6}\pm 1,15\cdot10^{6}$ $0,77\cdot10^{6}$ [$0,71\cdot10^{6}$; $1,58\cdot10^{6}$]	$0,57\cdot10^{6}\pm 0,54\cdot10^{6}$ $0,39\cdot10^{6}$ [$0,28\cdot10^{6}$; $0,47\cdot10^{6}$]	0,042
Дипольный момент, Кл/м	$4,04\cdot10^{-21}\pm 0,96\cdot10^{-21}$ $3,92\cdot10^{-21}$[$3,68\cdot10^{-21}$;$4,98\cdot10^{-21}$	$5,73\cdot10^{-21}\pm 1,46\cdot10^{-21}$ $6,17\cdot10^{-21}$[$4,76\cdot10^{-21}$;$6,92\cdot10^{-21}$]	0,021

Анализ изменения функциональных параметров клеток красной крови в группе пациентов с динамикой «обострение → ремиссия» показал, что наступление ремиссии ассоциировано со снижением доли деформированных, сфероцитарных форм эритроцитов с измененным характером поверхности при увеличении дискоцитарных, увеличением скорости движения клеток к электродам, величины дипольного момента, емкости мембран, тенденцией к нарастанию амплитуды деформации на высоких частотах, снижением обобщенных показателей вязкости и жесткости. Отмечено увеличение уровней

поляризуемости на низких частотах при развитии ремиссии. Выявлено отчетливое смещение равновесной частоты в низкочастотный диапазон в динамике «обострение→ ремиссия».

Наиболее значимыми параметрами эритроцитов, различающими обострение и ремиссию в данной группе пациентов, оказались: измененный характер поверхности клеток ($p < 0{,}001$); доля деформированных клеток ($p = 0{,}006$); обобщенный показатель жесткости ($p = 0{,}042$); электропроводность ($p = 0{,}042$); положение равновесной частоты ($p = 0{,}042$); величина дипольного момента ($p = 0{,}021$).

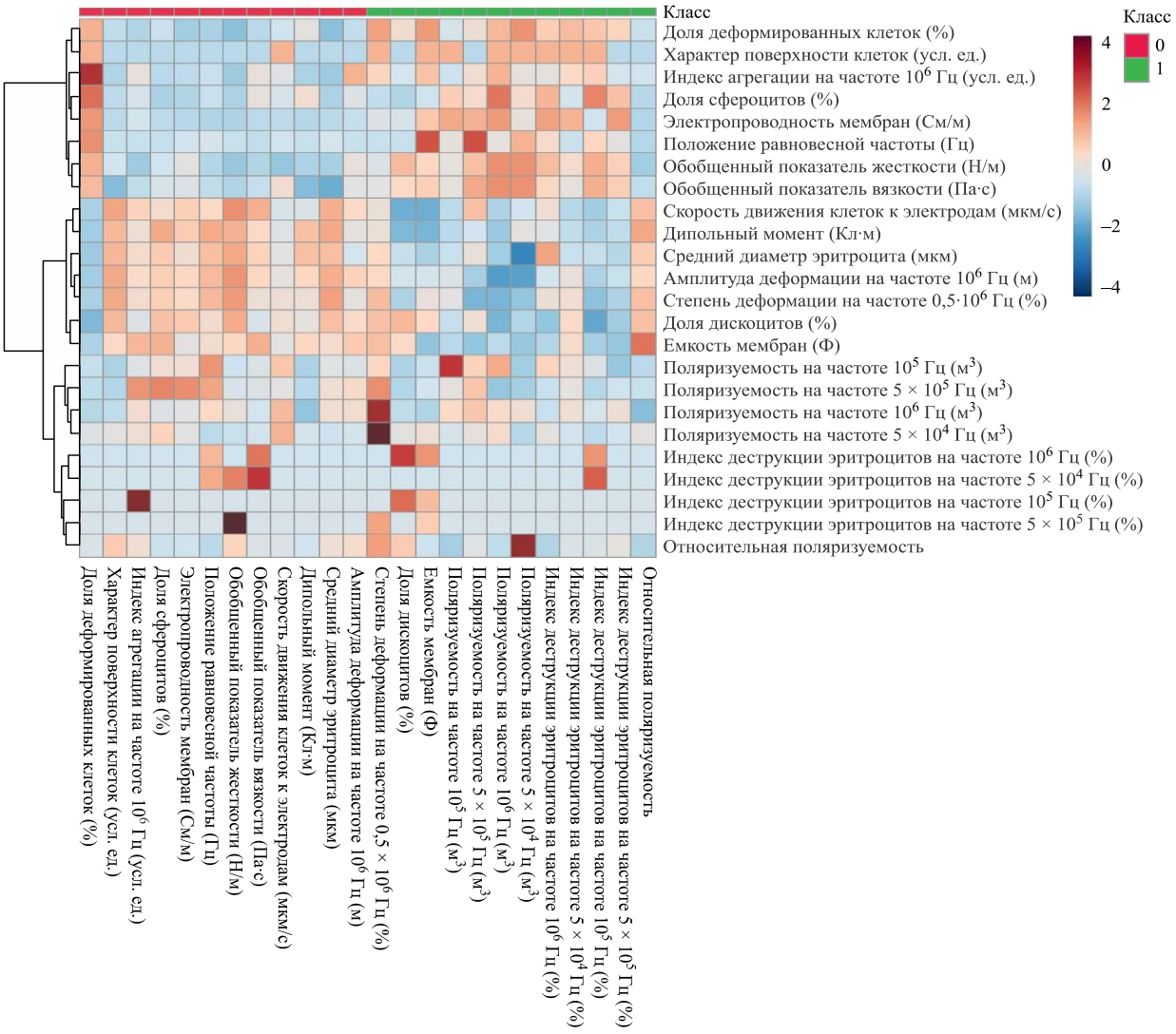
Для дальнейшей статистической обработки с целью определения предикторов обострения проведена нормализация электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике (рисунок 7).



Примечание: слева – параметры до нормализации, справа – после нормализации.

Рисунок 7 – Нормализация уровней электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Визуализация различий уровней вязкоупругих параметров эритроцитов в зависимости от стадии заболевания представлена на тепловой карте (рисунок 8), где слева – уровни параметров эритроцитов у пациентов, обследованных в динамике, в стадии ремиссии, справа – в стадии обострения.

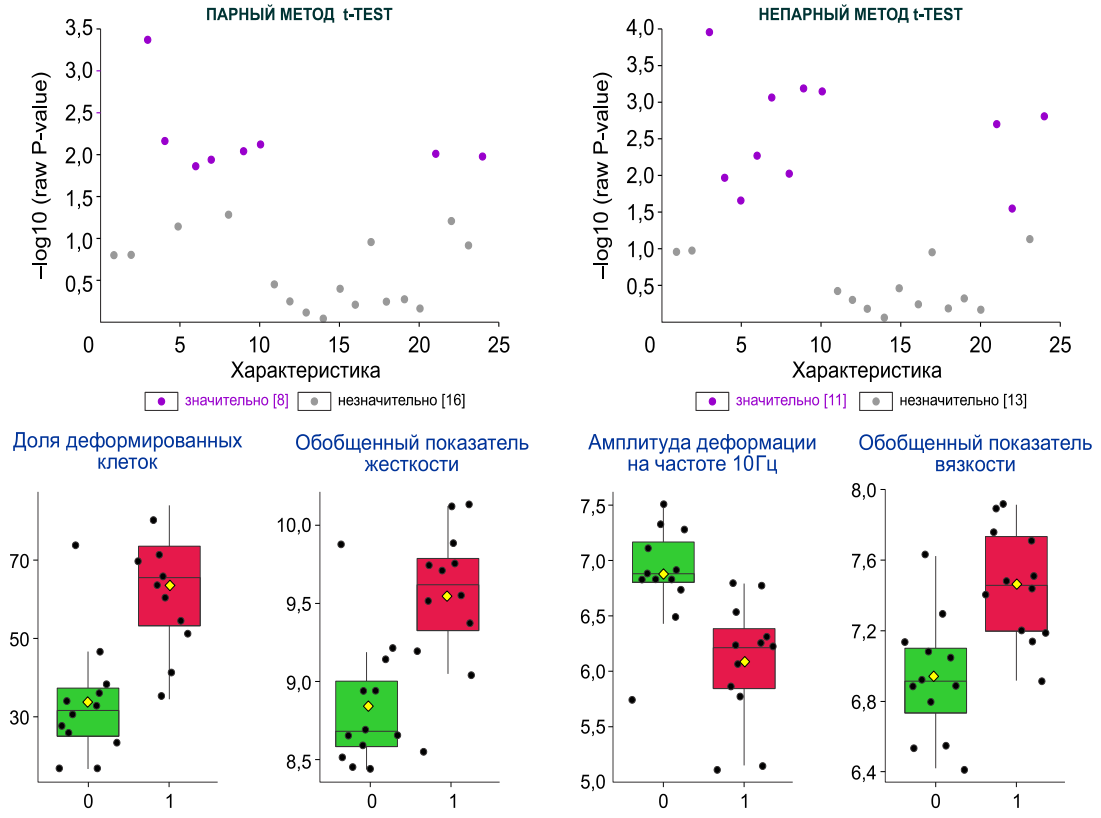


Примечание: слева (красная полоса) – уровни параметров эритроцитов в стадии ремиссии; слева (зеленая полоса) – в стадии обострения

Рисунок 8 – Тепловая карта (Heatmap) визуализации электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

По тепловой карте отчетливо визуализируется разница уровней параметров эритроцитов в стадии обострения и в стадии ремиссии.

Проведенный анализ с использованием t-test (парный и непарный) выявил 8 показателей, потенциальных биомаркеров предикции обострения, при пользовании парным методом и 11 параметров – при использовании непарного подхода (рисунок 9).

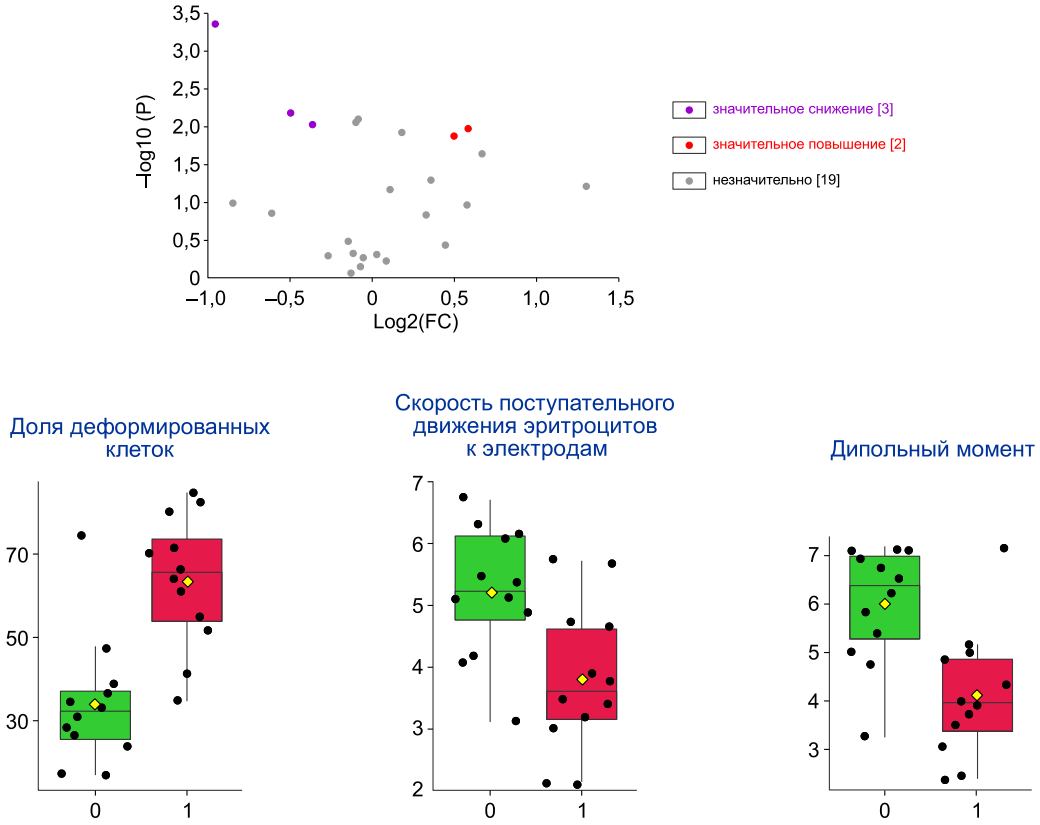


Примечание: красные столбики – уровни показателей в стадии обострения; зеленые – в стадии ремиссии; в диаграммах размаха («ящик с усами») границами ящика служат первый и третий квартили, линия в середине ящика – медиана.

Рисунок 9 – t-test (парный и непарный) для выявления предикторов обострения среди электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровни некоторых из них в форме диаграмм размаха у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

На первом этапе к числу наиболее значимых параметров предикции были отнесены доля деформированных клеток, обобщенные показатели вязкости и жесткости, амплитуда деформации клеток на частоте 10^6 Гц.

Применение метода Volcano plot (парная статистика) на втором этапе выявило пять вязкоупругих показателей, претендующих на роль маркеров предикции обострения – доля деформированных клеток, характер поверхности клеток, электропроводность, дипольный момент и скорость поступательного движения клеток к электродам (рисунок 10, таблица 15).



Примечание: красные столбики – уровни показателей в стадии обострения; зеленые – в тадии ремиссии.

Рисунок 10 – Применение метода Volcano plot (парная статистика) при анализе электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов, претендующих на роль маркеров предикции обострения, и уровни некоторых из них в форме диаграмм размаха у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Таблица 15 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, исследованные методом Volcano plot (парная статистика), у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике, претендующих на роль предикторов обострения

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов	Кратность изменений (**FC**)	log2(FC)	Значения «p» (raw.p val)	−log10(p)
Доля деформированных клеток, %	0,50977	−0,97208	0,000442	3,3546
Характер поверхности клеток, усл. коэффициент	0,70711	−0,5	0,006872	2,1629
Электропроводность, См/м	0,77197	−0,37338	0,009948	2,0023
Дипольный момент, Кл/м	1,4839	0,56943	0,011346	1,9451
Скорость движения Er к электродам, мкм/с	1,4064	0,49202	0,013671	1,8642

Применение метода Volcano plot (непарная статистика) электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов для выявления маркеров предикции обострения позволило выявить ряд совпадающих с результатами парной статистики и ряд дополнительных значимых параметров эритроцитов (рисунок 11, таблица 16).

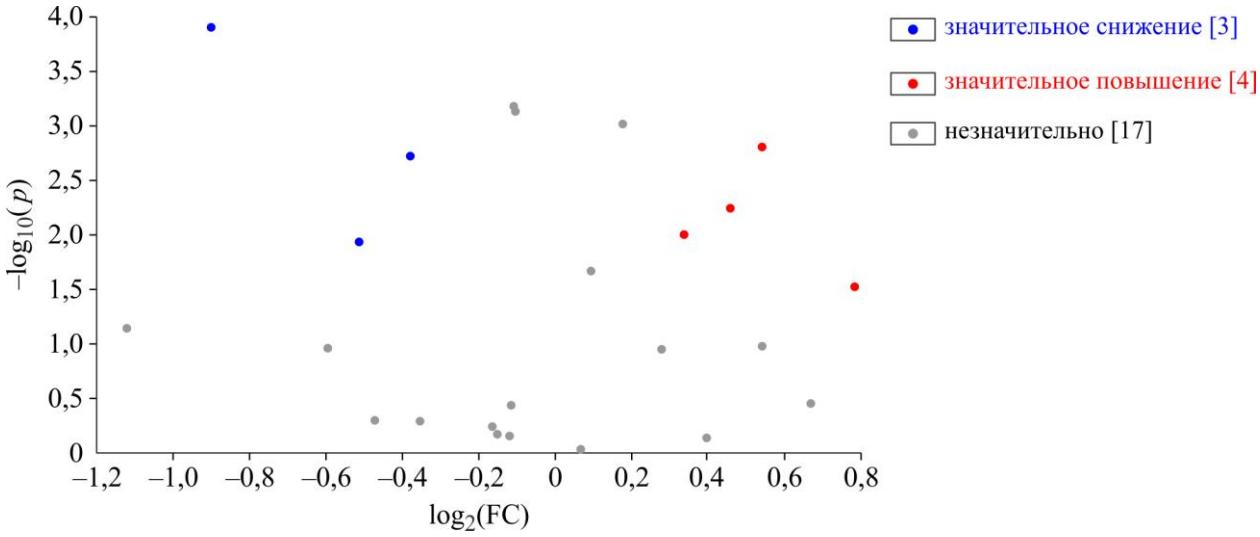


Рисунок 11 – Volcano plot (непарная статистика) электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов, претендующих на роль маркеров предикции обострения, и уровни некоторых из них (M ± SD) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

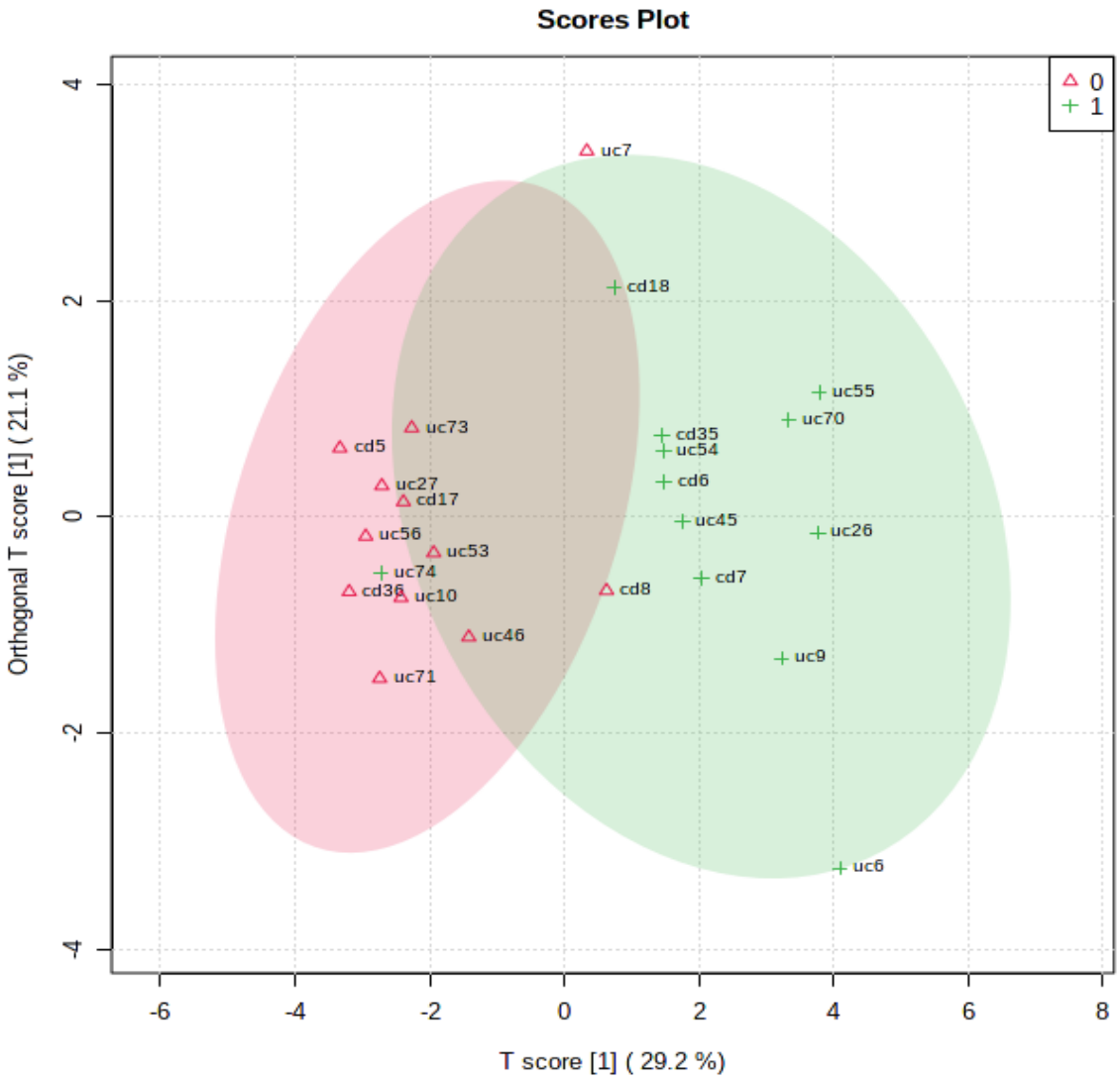
Таблица 16 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, исследованные методом Volcano plot (непарная статистика), у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике, претендующих на роль предикторов обострения

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов	Кратность изменений (FC)	log2(FC)	Значения «p» (raw.p val)	−log10(p)
Доля деформированных клеток, %	0,53491	−0,90262	0,000125	3,9046
Дипольный момент, Кл/м	1,4503	0,53632	0,001572	2,8037
Электропроводность, См/м	0,76876	−0,37939	0,001918	2,7171
Скорость движения Er к электродам, мкм/с	1,3684	0,45251	0,005699	2,2442
Степень изменения амплитуды деформации на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, %	1,2598	0,33315	0,00988	2,0052

Характер поверхности клеток, усл. коэффициент	0,7000	−0,51457	0,011436	1,9417
Емкость клеточной мембраны, Ф	1,718	0,78076	0,029885	1,5245

Данные парной и непарной статистики при использовании метода Volcano plot совпали по перечню параметров эритроцитов – доля деформированных клеток, величина дипольного момента, электропроводность мембран, скорость поступательного движения эритроцитов к электродам, характер поверхности клеток. Вместе с тем, непарная статистика позволила выявить еще два значимых показателя эритроцитов, претендующих на роль предикторов обострения – степень изменения амплитуды деформации на частоте (5×10^5) Гц ($p = 0{,}0098$) и емкость мембран эритроцитов ($p = 0{,}029$).

Возможности корректного различения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов при применении парной статистики модифицированным методом главных компонентов (ortho PLS-DA) представлены на рисунке 12.



Примечание: зеленое облако – в стадии обострения; розовое облако – в стадии ремиссии.

Рисунок 12 – Метод orthoPLSDA в различении электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (парная статистика) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Наличие устойчивых «кластеров» на тепловой карте корреляций электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (парная статистика) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике свидетельствует о тесной взаимосвязи и неслучайном сочетании параметров, ассоциированных со стадией ВЗК (рисунок 13).

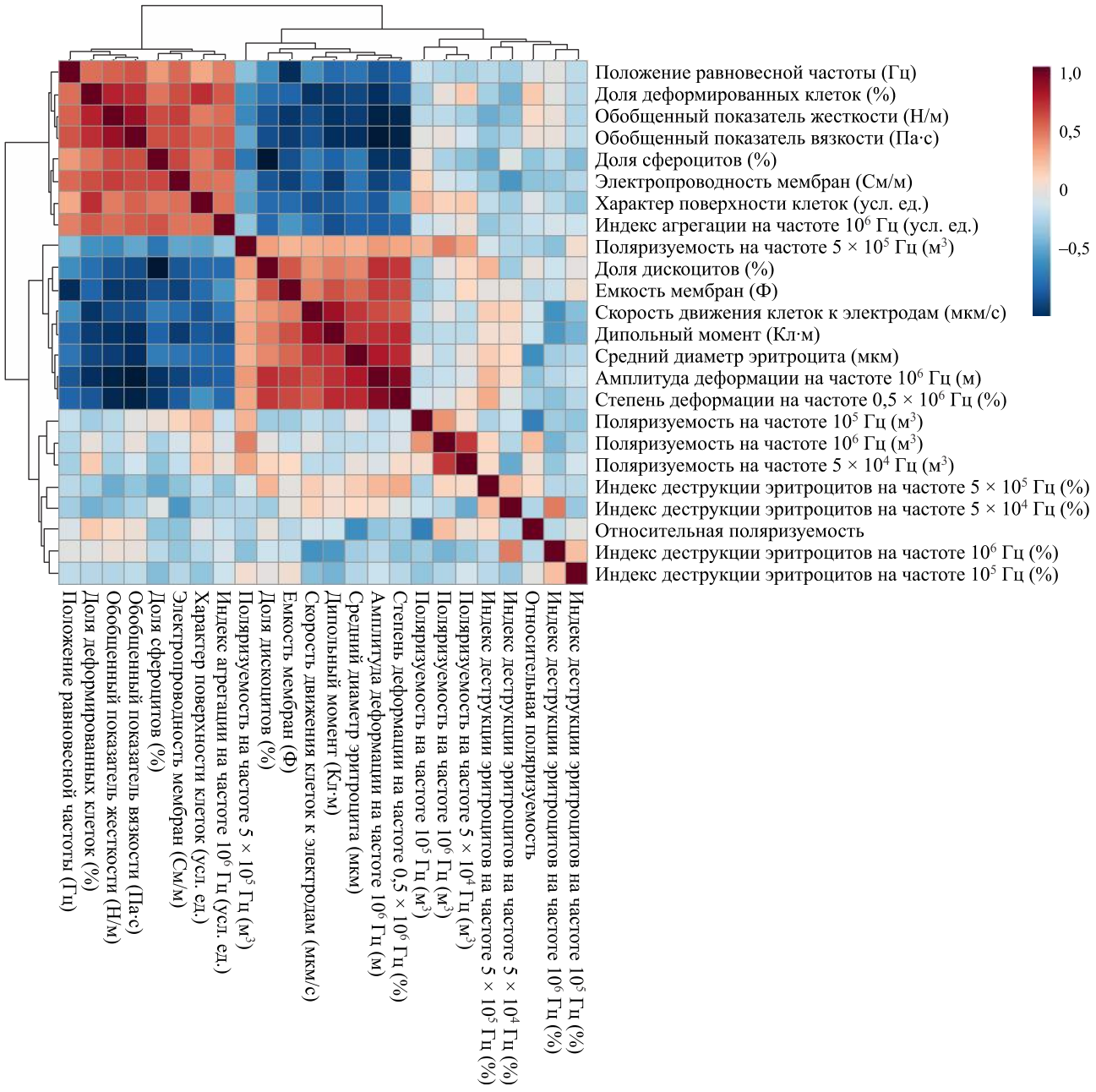


Рисунок 13 – Тепловая карта (Heatmap) корреляций электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (парная статистика) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Для примера на рисунке 14 представлены корреляции лишь одного из маркеров предикции – доли деформированных клеток – с большей частью вязкоупругих параметров эритроцитов. При этом наиболее тесные прямые

ассоциации выявлены с обобщенными показателями вязкости, жесткости, характером поверхности клеток, электропроводностью и индексом агрегации на частоте 10^6 Гц. Напротив – обратные сильные корреляции выявлены с амплитудой деформации на частоте 10^6 Гц, скоростью поступательного движения клеток к электродам, величиной дипольного момента, средним диаметром эритроцитов, степенью деформации клеток на частоте (5×10^5) Гц, емкостью мембран.

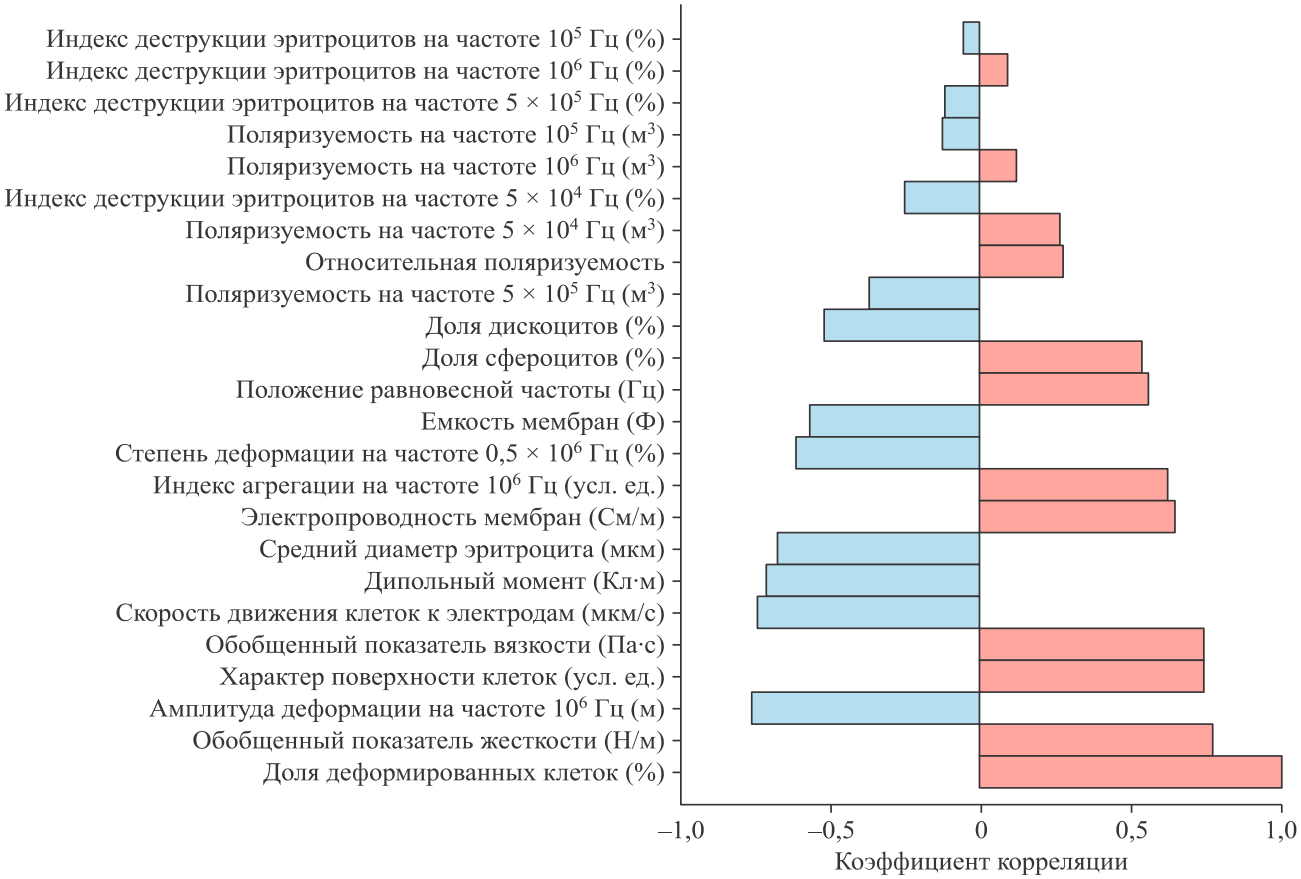
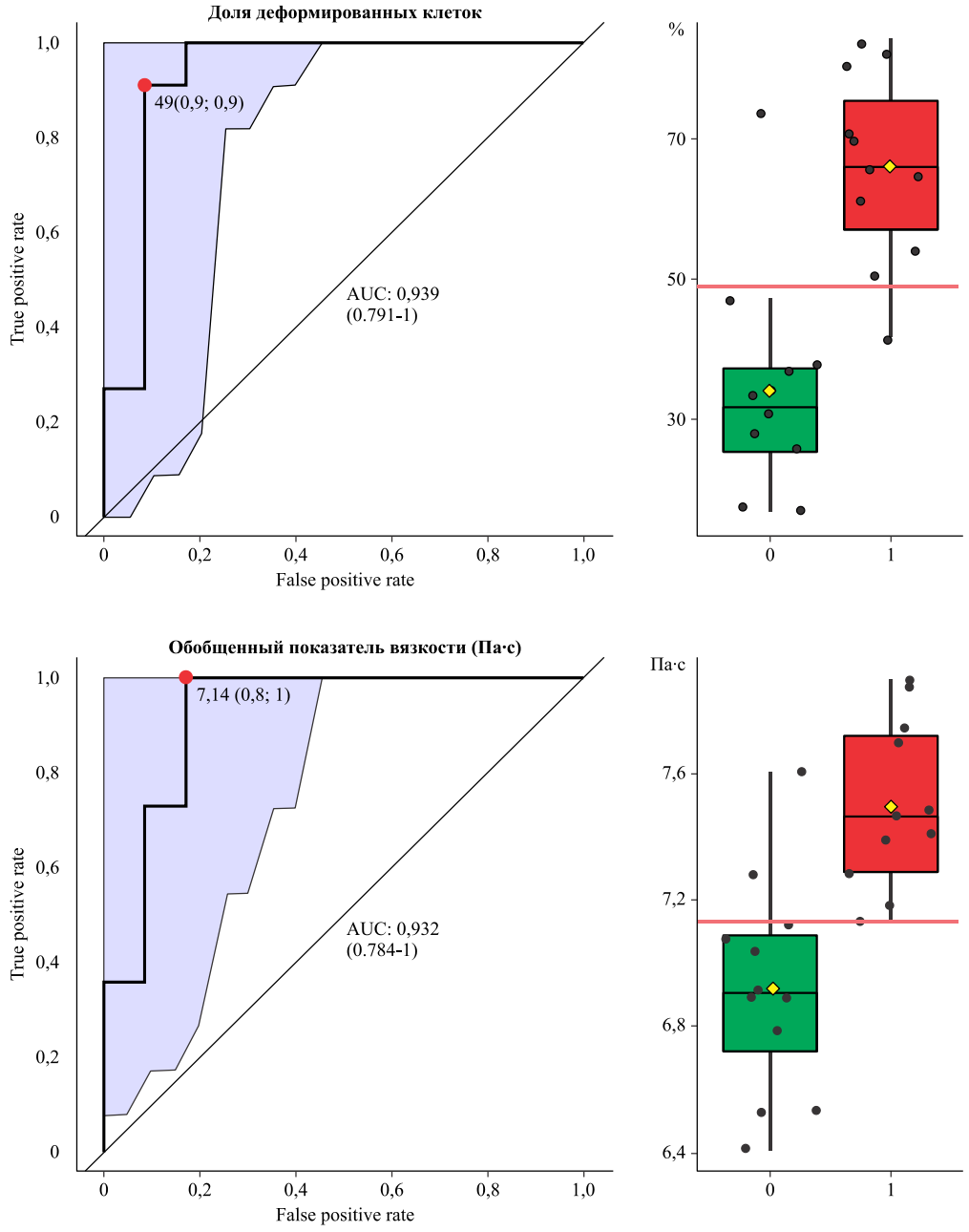


Рисунок 14 – Корреляции доли деформированных клеток с электрическими и вязкоупругими параметрами эритроцитов

При проведении ROC-анализа для предикции обострения высокий диагностический потенциал продемонстрировали даже отдельные показатели. На рисунке 15 показаны ROC-кривые для параметров – доля деформированных клеток и обобщенный показатель вязкости (выявлен на первом этапе обработки), а также уровни значений показателей при обострении и ремиссии.



Примечание: красные столбики – ремиссия; зеленые – обострение.

Рисунок 15 – ROC-кривые для доли деформированных клеток и обобщенного показателя вязкости, уровни значений показателей при обострении и ремиссии

Проведение кластерного анализа (K-means clustering) с учетом выявленных уровней электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, претендующих

на роль предикторов обострения, позволило (рисунок 16) выявить три кластера со сходными уровнями параметров эритроцитов. Из приведенного рисунка видно, что установленные уровни электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов достаточно четко выделяют пациентов в стадии ремиссии (зеленый кластер) за исключением одного пациента, который оказался в данной группе, имея активность ВЗК.

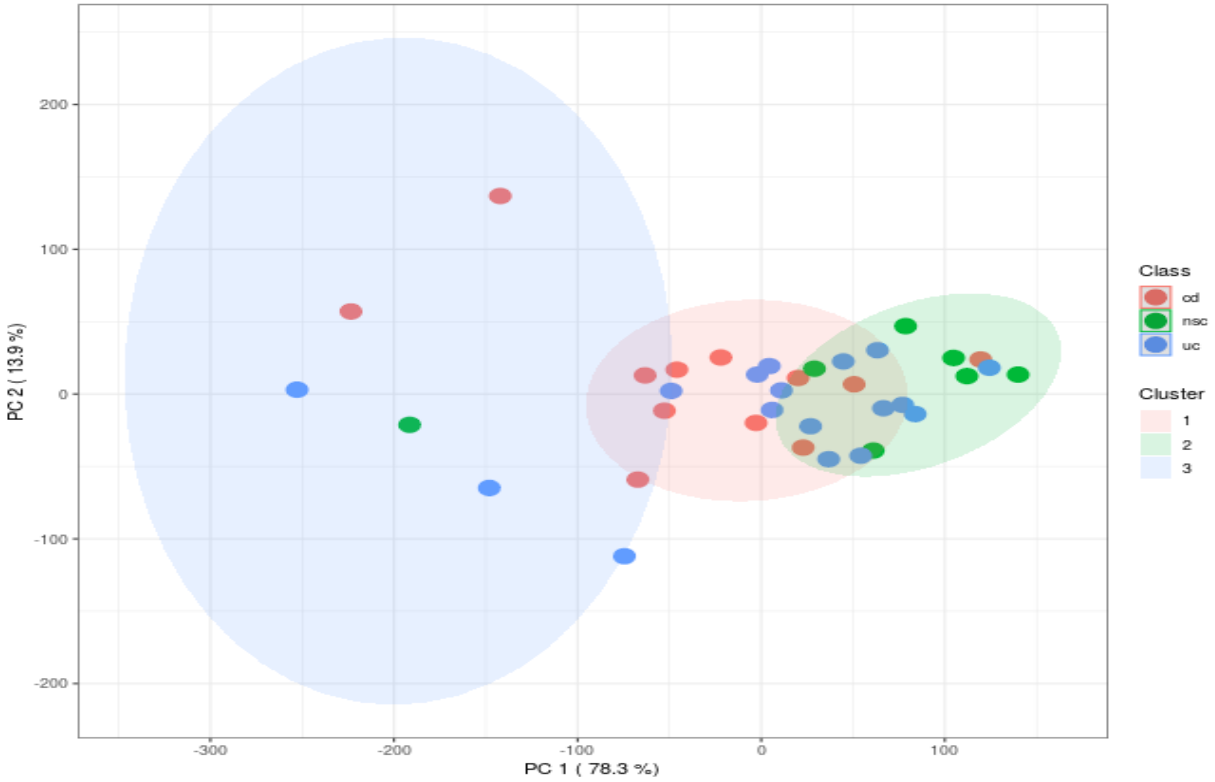
Примечание: зеленое облако – кластер пациентов с ВЗК в стадии ремиссии; синее и розовое – кластеры пациентов с ВЗК в стадии обострения; красные точки – пациенты в стадии ремиссии, синие – пациенты с ВЗК в стадии обострения.

Рисунок 16 – Кластерный анализ (K-means clustering) электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов – предикторов обострения у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Пациенты в стадии обострения четко разделились по уровню параметров эритроцитов на два кластера – один из них – голубой отражает пациентов с максимально выраженной активностью с наиболее выраженными отклонениями по параметрам эритроцитов. Среди пациентов данной группы оказался пациент с язвенным колитом в стадии ремиссии. Мониторинг его состояния позволил выявить развитие обострения заболевания через месяц после проведения исследования эритроцитов.

Пациенты, оказавшиеся в стадии обострения в пределах розового кластера, имели промежуточные уровни параметров эритроцитов между максимально отклоняющимися в пределах голубого кластера и минимальными в стадии ремиссии (зеленый кластер). Подобное промежуточное положение, возможно, отражает затухание обострения. Действительно, проспективное исследование пациентов данной группы установило развитие ремиссии через 2,5–3,5 месяца после проведенного исследования эритроцитов методом диэлектрофореза.

Для оценки предсказательных возможностей, установленных ранее электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, были исследованы уровни ряда показателей (доля деформированных клеток, доля клеток с измененным характером поверхности, электропроводность мембран, дипольный момент, скорость поступательного движения эритроцитов к электродам, степень изменения амплитуды деформации на частоте (5×10^5) Гц, и емкость мембран эритроцитов) у пациентов с ВЗК – 36 человек, находившихся в стадии ремиссии. Применение кластерного анализа выявило три основных группы по уровням данных параметров эритроцитов (рисунок 17).



Примечание: зеленое облако – кластер пациентов с ВЗК в стадии ремиссии с минимально измененными уровнями параметров эритроцитов; розовое – кластер пациентов с ВЗК в стадии ремиссии с промежуточными уровнями параметров эритроцитов; голубое – кластер пациентов с ВЗК в стадии ремиссии с максимально измененными уровнями параметров эритроцитов; красные точки – пациенты с болезнью Крона; синие – пациенты с язвенным колитом; зеленые – пациенты с неклассифицируемым колитом.

Рисунок 17 – Кластерный анализ (K-means clustering) электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов – предикторов обострения у пациентов с ВЗК в стадии ремиссии (n = 36)

В кластере с максимально измененными уровнями параметров эритроцитов (голубой – 7 пациентов) оказались по три пациента с ЯК и БК и один – с НКК. У шестерых больных данной группы развилось обострение заболевания в сроки от 2,5 до 4,5 месяцев после проведенного исследования клеток красной крови. Три пациента с БК и один с ЯК, оказавшихся в зоне перекрытия голубого и розового кластеров оказались в активной фазе заболевания через 4–6 месяцев. У пациентов,

входящих в розовый кластер, выявлено обострение через 8–12 месяцев (n = 15) или сохранялась ремиссия (n = 3). У пациентов, входящих в кластер с минимально измененными параметрами эритроцитов (зеленый кластер) сохранялась ремиссия в течение года. Предсказательная точность предложенного подхода составила 92 %.

Таким образом, в ограниченной группе пациентов с ВЗК, обследованных в динамике, выявлено, что маркером предикции обострения является совокупность следующих параметров эритроцитов: повышенная доля деформированных эритроцитов; клеток с измененным характером поверхности; высокие уровни электропроводности и сниженные уровни дипольного момента; скорости движения клеток к электродам; емкости мембран эритроцитов и степень изменения амплитуды деформации на частоте (5 × 105) Гц ($p < 0{,}0004–0{,}029$).

ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ

Выявленные различия в электрических и вязкоупругих параметрах эритроцитов у пациентов с ВЗК, ассоциированные как с наличием заболевания, так и его вариантом, стадией болезни не случайны и, вероятно, обусловлены целым перечнем функций этих самых многочисленных клеток крови [11]. Кроме основной жизненно важной функции – обеспечения транспорта кислорода и углекислого газа, показано участие эритроцитов в метаболических, иммунных, воспалительных процессах, регуляции сосудистого тонуса, процессах фиброгенеза и др. [13; 17].

Пристальное внимание к данной клетке крови со стороны исследователей определяется рядом факторов, начиная с доступности этого объекта для изучения, устойчивости при проведении экспериментов, заканчивая тем, что эритроцит, его мембрана считается идеальной моделью, отражающей состояние клеток других органов и тканей [6].

Целый ряд параметров красной крови, доступных в рутинной клинической практике, используется для верификации диагноза при ВЗК. Следует заметить, что интерес к свойствам клеток красной крови в связи с проблемами ВЗК сохраняется. Примером может служить недавний обзор Katsarosa M. et al., 2020 [143], в котором показана возможность использования показателя RDW – ширины распределения эритроцитов по объему – для установления активности ВЗК, дифференцированию ЯК от БК.

Изученные в данной работе электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов могут быть рассмотрены в качестве потенциальных маркеров как для дифференциальной диагностики вариантов ВЗК, установления стадии заболевания, так и в качестве прогностических факторов.

Имеющиеся клинические и иммуно-генетические различия между основными нозологическими формами ВЗК (язвенным колитом и болезнью Крона) требуют ранней точной дифференциальной диагностики для выбора

оптимального консервативного и/или хирургического лечения. В то же время, на ранних этапах развития заболевания клинические проявления ВЗК нередко весьма схожи, особенно при поражении толстой кишки. Более чем в 25 % случаев клиницистам приходится прибегать к диагнозу «неклассифицируемый колит», который предполагает дальнейшую верификацию. Показано, что от 5 % до 15 % случаев колита при ВЗК не отвечают строгим критериям ни для ЯК, ни для БК [94; 231], а у 14 % пациентов, классифицируемых, как имеющих ЯК или БК, диагноз со временем меняется [25; 205].

Выбор терапии при ВЗК определяется, главным образом, активностью воспалительного процесса. Для оценки активности воспаления при ВЗК используются клиническая оценка, морфологическая верификация, в ряде случаев сопряженная с риском ятрогенного обострения, а также весьма ограниченный перечень лабораторных методов (СОЭ, СРБ, фекальный кальпротектин). Полной корреляции между данными различных способов оценки активности ВЗК нет, что часто требует дополнительных затрат, нагрузочно для пациента и чревато ошибками в оценке клинической ситуации и определении тактики лечения [197].

За последние пятнадцать лет развитие биологической терапии и широкое применение иммуномодуляторов радикально изменили стратегию лечения ВЗК [65; 258]. Прогностические показатели, ориентированные на оценку воспаления слизистой оболочки, стали важной целью лечения, предсказывающей долгосрочные результаты с точки зрения прогрессирования заболевания, осложнений и стероид-сберегающих мероприятий [185; 195]. В этом контексте вопрос дифференциальной диагностики вновь привлек к себе внимание, поскольку как медикаментозное, так и хирургическое лечение предполагает все больше стратегий, специфичных для конкретного заболевания [10; 18; 26; 27; 88; 103; 263; 277].

Поэтому поиск новых, неинвазивных или малоинвазивных методов дифференциальной диагностики между разными нозологическими вариантами ВЗК, способов оценки активности воспалительного процесса, а также

предикторов обострения ВЗК представляется актуальным. Изменение свойств мембран эритроцитов при воспалении кишечной слизистой и на фоне сопутствующей ВЗК хронической кровопотере может оказаться одним из таких новых диагностических тестов.

Следует заметить, что электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов демонстрируют изменения раньше, чем сдвиги, обнаруживаемые с помощью стандартных методов (число эритроцитов, уровень гемоглобина, цветовой показатель и др.), которые показывают отклонения в случае изменений в большей части популяции эритроцитов [7]. Параметры, определяемые методом диэлектрофореза, связаны с более «тонкими», ранними процессами изменения заряда клеточной мембраны, ее способностью проводить электрический ток, структурными перестройками, функциональной способностью клеток в условиях развития патологии. Эритроциты подвергаются влияниям со стороны цитокинов, уровень и соотношение которых значимо отличны при язвенном колите и болезни Крона [59; 235; 238; 239].

Воспалительный каскад при ВЗК, независимо от этиологии, характеризуется персистирующей и неадекватной активацией Т-клеток и макрофагов, сопровождающейся увеличенной продукцией провоспалительных цитокинов, особенно интерлейкинов-1, -2, -6 и -8, интерферона и TNF-a [129; 149]. Различия в «панели» цитокинов, ассоциированных с разными вариантами ВЗК, могут быть одной из причин отличающихся изменений в параметрах эритроцитов.

Пациенты с ВЗК (общие группы) отличались от лиц группы контроля эритроцитами с измененным характером поверхности, повышенными уровнями деформированных, сфероцитарных форм клеток при снижении дискоцитарных, что косвенно свидетельствует о внутриклеточном энергодефиците [11]. Авторы Е. А. Черницкий и А. В. Воробей [16] отмечали, что в создании физиологически оптимальной формы эритроцитов принадлежит важная роль АТФ-зависимым системам, обеспечивающим фосфорилирование мембранных белков. Нормальная деформируемость эритроцитов является важным фактором поддержания

необходимой перфузии в микроциркуляторном русле, особенно при низких градиентах артериального давления, а ухудшение этого свойства эритроцитов ведет к более выраженным изменениям показателей гемостаза и гемодинамики [172; 258], которые были отмечены в ряде работ у пациентов с ВЗК [60; 72; 146; 265; 270]. Сниженная деформабельность эритроцитов у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника на фоне повышенных обобщенных показателей вязкости и жесткости, вероятно, обусловлена изменениями, как структуры мембран клеток, так и их цитоплазмы. Действительно, известно об изменениях липидных компонентов клеточных мембран при ВЗК, причем, отличных при ЯК и БК. По данным Uchiyama K. et al., 2013 [254], в мембранах эритроцитов пациентов с дебютом болезни Крона по сравнению с группой язвенного колита наблюдалось более высокое содержание арахидоновой, стеариновой и эйкозеновой кислот ($p < 0,01$), ($p < 0,01$) и ($p < 0,001$) соответственно и более низкие уровни миристиновой и пальмитиновой кислот ($p < 0,05$).

Стоит иметь в виду, что снижение содержания АТФ в эритроцитах ведет к изменениям метаболизма липидов мембраны, увеличению уровня ацилглицеринов, что вызывает изменения формы и вязкостно-эластических свойств мембраны клеток [168; 214; 245].

Следует принимать во внимание и влияние со стороны воспалительных белков, уровень которых значительно повышен при ВЗК в стадии обострения. Эритроциты способны адсорбировать на своей поверхности крупно-воспалительные белки, независимо от их антигенной структуры [11; 17]. Это приводит к существенной модификации их поверхности со снижением поверхностного отрицательного заряда [7], о чем свидетельствуют сниженные уровни скорости поступательного движения к электродам и величины дипольного момента. Напротив, повышенный уровень альбумина ассоциирован с высоким зарядом клеток красной крови [17; 115]. Под влиянием белковых компонентов происходит утолщение мембран с последующим снижением их емкости [19; 174].

Выявленные отрицательные корреляции скорости движения эритроцитов, дипольного момента, емкости мембран с уровнями С-реактивного белка, фибриногена и положительные – с уровнем альбумина являются косвенным подтверждением описанного воздействия.

Изменения структуры мембран эритроцитов с последующим снижением их поверхностного электрического заряда сопряжены как со сдвигами в уровнях фосфолипидных фракций и холестерина, так их составляющих – жирных кислот [11; 17]. Последние тесно ассоциированы с паттерном цитокинов, гормонов, связанных с активацией воспаления [31; 239].

Снижение интегрального заряда на поверхности мембран эритроцитов или даже изменение его знака с минуса на плюс для относительно небольшого количества клеток предполагает образование агрегатов у пациентов с ВЗК, что подтверждается увеличением индекса агрегации [255; 273]. Повышенное образование агрегатов в период обострения воспалительных заболеваний кишечника описано и согласуется с результатами настоящего исследования [135; 281]. Снижение потенциала на мембране эритроцита приводит к нарушению взаимодействия между ее компонентами (фосфолипидами, эфирами холестерина, триглицеридами), усиливая процессы перекисного окисления [137; 138]. Такие эритроциты не способны эффективно выполнять функцию переноса кислорода. Поляризуемость клеток на разных частотах электрического поля, отражающая их резистентность, значительно снижается, что обусловливает избыточный лизис клеток. Следует отметить, что у пациентов с активной болезнью Крона гемолиз эритроцитов оказался наиболее выраженным в отличие от пациентов с другими формами ВЗК, причем на всех частотах электрического поля. Вероятно, большая «хрупкость» эритроцитов при БК обусловлена ассоциированными с данной патологией нарушениями всасывания значимых для состояния клеток аминокислот, железа, микроэлементов.

Повышенный гемолиз клеток красной крови является одним из факторов, усиливающих агрегацию, поскольку гемолизат эритроцитов обладает

прокоагулянтными свойствами, способствуя развитию вторичной гиперкоагуляции благодаря рефлекторному выбросу в кровь тканевого тромбопластина [14; 29]. Описанные протромботические эффекты свободного гемоглобина и гема, как и способность измененных эритроцитов стимулировать образование тромбина посредством презентирования фосфатидилсерина на наружной поверхности мембран являются факторами повышенного агрегатообразования [29; 157; 274].

Интересным аспектом, требующим обсуждения, следует считать различия в параметрах эритроцитов в группах с различными нозологическими формами ВЗК. Следует отметить, что в общих группах, без учета стадии заболевания отличия по ряду электрических и вязкоупругих параметров носили характер тенденций. Наиболее ярко особенности параметров эритроцитов проявились в подгруппах пациентов с обострением заболеваний до начала терапии или на фоне терапии препаратами 5-аминосалициловой кислоты. Оказалось, что сдвиги в электрических и вязкоупругих показателях эритроцитов более выражены при болезни Крона, чем у пациентов с язвенным колитом и НКК. При болезни Крона эритроциты обладали более низкой пластичностью на фоне высоких показателей вязкости и жесткости, были более склонны к гемолизу и образованию агрегатов. Более выраженные сдвиги в структуре мембран при болезни Крона были ассоциированы с низкими значениями емкости мембран и высокими уровнями электропроводности. Более низкий поверхностный заряд эритроцитов при болезни Крона, чем при язвенном колите, отражают достоверно сниженные величины скорости движения эритроцитов к электродам и дипольного момента.

Одной из вероятных причин наблюдаемых особенностей, вероятно, следует считать наличие анемии различного генеза у преобладающего числа пациентов с БК и ЯК – анемия воспалительных заболеваний и железодефицитной соответственно, что согласуется с результатами ряда исследований [85; 198; 248].

На сегодняшний день главным звеном в патогенезе анемии хронических заболеваний считается гиперпродукция провоспалительных цитокинов. Они

приводят к угнетению синтеза эритропоэтина и значительно снижают его эффекты, направленные на усиление пролиферации и созревания эритроидных предшественников [84; 198; 209]. Нарушение метаболизма железа при АХЗ во многом опосредовано экспрессией гепсидина. Гепсидин — это белок острой фазы воспаления, который синтезируется печенью в ответ на воздействие липополисахаридов бактерий и интерлейкина-6. Гепсидин снижает всасывание железа в двенадцатиперстной кишке, блокирует высвобождение железа из макрофагов и снижает способность красного костного мозга его усваивать. Недостаточное поступление железа в эритроидные клетки приводит к нарушению их созревания и снижению синтеза гема [35; 103; 124; 125].

Участие провоспалительных цитокинов в генезе АХЗ при ВЗК обусловлено как прямым их ингибирующим действием (в первую очередь, гамма-интерферона) на созревание эритроидных клеток и усилением процессов апоптоза, так и опосредованными эффектами: подавлением синтеза эритропоэтина; снижением чувствительности к нему эритроидных клеток; активацией синтеза гепсидина и нарушением утилизации железа; а также усилением свободно-радикальных реакций [35; 85]. На фоне данных процессов у пациентов с БК, вероятно, сдвиги в структуре мембран эритроцитов оказываются более выраженными, что отражается значительным повышением их электропроводности. При ВЗК некоторые провоспалительные цитокины (например, интерлейкин-6) повышают уровень гепсидина, определяя тем самым секвестрацию железа в макрофагах и неспособность транспортировать этот элемент в плазму [103; 117].

Проведенные нами ранее исследования у ограниченного числа пациентов с ЯК и БК [3] показали более высокую активность гепсидина при болезни Крона по сравнению с таковым при ЯК.

Более высокие уровни маркеров воспаления при активной БК – ферритина, СРБ, фибриногена, СОЭ, количества лейкоцитов, вероятно, оказались значимыми

факторами для электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, что подтверждает сила и степени достоверности выявленных корреляций.

Преобладание ЖДА у пациентов с ЯК связано с «абсолютным дефицитом железа» из-за нарушений питания и, главным образом, кровопотери из изъязвленной слизистой оболочки кишечника, при этом у пациентов выявлены низкие уровни ферритина и сывороточного железа, что отражает истощение запасов последнего [198]. Преобладание эритроцитов со сниженными размерами, повышенной емкостью мембран косвенно может отражать активацию эритропоэза [208]. Возникающий при напряженном эритропоэзе ускоренный ритм клеточного деления сопровождается нарушениями во всех звеньях аппарата синтеза белков (в том числе гемоглобина, белков мембраны и цитоскелета клетки), а также появлением клеток с редуцированным метаболизмом, что приводит к усилению перекисного окисления липидов (ПОЛ) и частичной декомпартментализации клеток [11; 17]. В связи с этим стоит отметить, что выявленные нарушения структурно-метаболического статуса и функциональных свойств эритроцитов в данной работе обнаруживались как у пациентов с анемией, так и у больных без лабораторно регистрируемых признаков малокровия. Можно заключить, что функциональная неполноценность клеток красной крови у больных с ЯК и сопутствующий анемический синдром приводят к усилению гипоксического состояния и способствуют формированию порочного круга, усугубляя течение основного процесса. Следствие повышения уровня незрелых эритроцитов в циркулирующей крови было показано в недавнем исследовании Shahbaz S. et al. у пациентов с Covid-19: увеличение их (до 60 %) приводит к выраженному иммуносупрессивному эффекту (они подавляют выработку антител и Т-клеточный иммунитет против вируса SARS-CoV-2, что еще больше усугубляет течение заболевания) [101]. В случае пациентов с ВЗК, вероятно, следует также принимать во внимание данной аспект влияния незрелых клеток красной крови.

Стоит отметить, что у пациентов с неклассифицируемым колитом с более коротким стажем заболевания, преобладанием лиц с легким и среднетяжелым течением заболевания, меньшей долей пациентов с анемией и в стадии обострения, тем не менее, отмечены значимые различия в уровнях электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов от лиц контрольной группы и других форм ВЗК. При этом уровень части параметров эритроцитов занимал промежуточное положение между таковыми у пациентов с ЯК и с БК, значения других показателей оказались сопоставимыми с группой с БК, показатели же поляризуемости на низких частотах электрического поля оказались выше, чем в других группах с ВЗК, демонстрируя высокий уровень адаптационных возможностей клеток. Подобные разнонаправленные тенденции в уровнях показателей эритроцитов в данной группе могут свидетельствовать о ее неоднородности с точки зрения нозологических форм ВЗК. Доступные методы диагностики ВЗК на данном этапе не позволили дифференцировать ЯК и БК среди пациентов с НКК, однако можно ожидать, что при динамическом наблюдении впоследствии диагноз будет верифицирован. С точки зрения результатов настоящего исследования представляется целесообразным определение дифференцирующих значений наиболее значимых параметров эритроцитов для отдельных групп – ЯК, БК с учетом стадии заболевания с последующим сравнением уровней показателей у пациентов с НКК. С нашей точки зрения, это задачи последующего этапа работы, который предполагает расширение групп обследуемых и сроков наблюдения за ними.

Диагностика и мониторинг активности ВЗК основаны на сочетании клинических показателей, лабораторных маркерах, данных эндоскопии, гистологического исследования и лучевых методах визуализации [95; 231]. Однако они имеют различные недостатки, такие как вариабельная чувствительность и специфичность, высокая стоимость, ограниченная доступность, сложность выполнения, инвазивность, риск осложнений и недостаточная воспроизводимость [218; 248]. Потребность в показателе,

используемом для выявления и мониторинга степени активности заболевания при ВЗК, который может помочь преодолеть эти недостатки, все еще остается актуальной. Биомаркеры, которые легко выявляются с помощью надежных и дешевых анализов, имеют очевидные преимущества для выявления активной стадии заболевания.

Показатели красной крови, такие как количество эритроцитов, уровень гемоглобина и СОЭ, широко используются в клинической практике для объективизации состояния пациента с ВЗК [10; 18]. Они входят в число критериев, определяющих тяжесть обострения при ЯК (критерии Truelove-Witts при ЯК), наличие анемии и ее степень входит в число осложнений ВЗК; исследование развернутого анализа крови, показателей обмена железа, уровня фолиевой кислоты, витамина В12 рекомендовано при проведении дифференциальной диагностики анемий [10; 18].

Возможности использования параметров эритроцитов для оценки степени воспаления определяются тесной связью клеток красной крови с маркерами воспаления [216]. Адсорбция крупномолекулярных белков (фибиноген, С-реактивный белок, иммуноглобулины классов А, М и G) на поверхности эритроцитов приводит к существенной модификации структуры их мембран [255], что значительно изменяет поверхностный заряд клеток, «экранируя» нейраминовые кислоты, связанные с его величиной. Это сказывается на скорости движения эритроцитов к электродам, величине дипольного момента, которые в большей степени снижены у пациентов с активными ВЗК. Снижение поверхностного заряда эритроцитов приводит к повышенной склонности к образованию клеточных агрегатов, что наблюдалось у пациентов с обострением ВЗК.

Нарушение взаимодействия между компонентами мембраны эритроцитов ассоциировано с повышенной способностью мембран проводить электрический ток. С другой стороны, крупномолекулярные белки влияют на толщину мембран

эритроцитов, сказываясь на уровне емкости. Резкое снижение ее отмечено именно у пациентов с активными ВЗК по сравнению с неактивными и группой контроля.

Описано влияние провоспалительных цитокинов на величины поляризуемости клеток [142], которая определяет адаптационные возможности эритроцитов [7]. Значительное снижение этого показателя на всех частотах электрического поля у пациентов с ВЗК в стадии обострения по сравнению с ремиссией, приводит к избыточному гемолизу эритроцитов.

Более низкие значения диаметра клеток красной крови при активных ВЗК, вероятно, ассоциированы с наличием анемии различного генеза у большей части пациентов с ВЗК. Вместе с тем известно, что степень и тяжесть анемии, как при болезни Крона, так и при язвенном колите связаны с активностью заболевания [225; 204].

По данным Oliveira A. M. et al. [58] выраженная и независимая ассоциация между активностью ВЗК и параметрами эритроцитов (на примере ширины распределения эритроцитов по объему) ($p = 0{,}044$) оставалась даже после корректировки на уровень гемоглобина, СОЭ и проводимую биологическую терапию [58].

Таким образом, наличие популяций клеток красной крови с выраженной гетерогенностью в результате анемии и недостаточного эритропоэза, возникших вследствие прямых и косвенных эффектов воспаления и окислительного стресса, представляется возможной гипотезой для объяснения корреляций электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с активностью заболевания при ВЗК.

Следует заметить, что изменения параметров эритроцитов, связанные с воспалением, возможны при развитии процесса и в других органах [7]. Сочетание этих характеристик эритроцитов с уровнем фекального кальпротектина обеспечивает специфичность предложенного подхода для диагностики именно ВЗК и повышает диагностическую точность по сравнению с использованием показателей по отдельности. Кроме того, преимуществами предложенного способа определения активности ВЗК с помощью комбинированного

использования электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина по сравнению с существующими, являются: его малоинвазивность; возможность определить стадию ВЗК в короткие сроки; независимость определения от квалификации и опыта специалиста, проводящего исследование; малая затратность и трудоемкость; приемлемость для пациента. Данный подход позволяет установить наличие обострения или ремиссии независимо от нозологической формы ВЗК. Способ продемонстрировал достаточную диагностическую точность – 92,3 %.

Небольшой объем выборки и ее недостаточная однородность определяет необходимость в дальнейшем оценить возможность предложенного подхода на уровне популяции, проспективных исследований, определить воспроизводимость метода, провести внутреннюю и внешнюю валидизацию.

Исследование параметров эритроцитов в качестве маркеров предикции обострения/ремиссии выявило ряд показателей (доля деформированных клеток, величина дипольного момента, электропроводность мембран, скорость поступательного движения эритроцитов к электродам, характер поверхности клеток, степень изменения амплитуды деформации на частоте (5 × 105) Гц, емкость мембран эритроцитов), которые, вероятно, изменяются ранее других электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и имеют более тесные корреляции с маркерами воспаления.

Таким образом, продемонстрирована возможность использования электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов для диагностики ВЗК, дифференцирования нозологических форм, определения активности и прогноза течения.

Наряду с традиционными методами статистической обработки, нами были использованы новые подходы – методы машинного обучения, при применении которых учтены не только различия в уровнях электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, но и степень значимости параметра и характер взаимосвязи со стадией ВЗК.

Ввиду множества факторов, которые могли повлиять на уровни исследуемых параметров эритроцитов, перед началом статистической обработки проводилась нормализация изучаемых показателей. Это оказалось особенно значимым для установления маркеров предикции течения ВЗК. Использование t-test и метода главных компонентов в модификации (ortho PLS-DA) позволило четко выявить различия в исследуемых парах групп. Метод Volcano-plot обеспечил выявление параметров, претендующих на роль биомаркеров – предикторов обострения ВЗК. Тепловые карты позволили визуализировать имеющиеся отличия по массе исследуемых параметров. Данные подходы являются обоснованными и широко используемыми в метаболомике [55; 62; 165; 244].

Проблема поиска биомаркеров прогнозирования рецидива ВЗК продолжает оставаться весьма актуальной. Как описано выше, исследование параметров эритроцитов в качестве маркеров предикции обострения/ремиссии выявило ряд значимых показателей. Изучение уровней электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов, претендующих на роль маркеров обострения, было проведено в группе пациентов с ВЗК (n = 36), которые находились в стадии ремиссии. Гипотеза состояла в том, что и в состоянии ремиссии величины параметров эритроцитов могут отличаться, что и предскажет грядущее обострение. Поскольку состояние ремиссии у пациентов длилось от 6 до 12 месяцев, изменения уровней показателей клеток красной крови не могли быть связаны с предшествующей активностью заболевания. По уровням параметров эритроцитов применение кластерного анализа позволило выделить три основные группы пациентов с ВЗК, находившихся в стадии ремиссии. За течением заболевания в каждой из групп проводилось годовое наблюдение. Установлено, что у большей части пациентов с максимально измененными параметрами эритроцитов развилось обострение в достаточно короткие сроки – от 2,5 до 4,5 месяцев. «Пограничные уровни» параметров эритроцитов предполагали более отдаленные сроки наступления обострения (4–6 месяцев). Наконец, минимально

измененные уровни электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов были ассоциированы с развитием активности ВЗК через 8–12 месяцев или с сохранением ремиссии. Из полученных данных следует, что установленные в качестве предикторов обострения электрические и вязкоупругие показатели эритроцитов могут не только предсказать развитие активности ВЗК, но и стратифицировать ее риск. Предсказательная точность предложенного подхода составила 92 %.

Таким образом, проведенное исследование продемонстрировало высокий потенциал использования электрических, вязкоупругих параметров эритроцитов как для различения пациентов с ВЗК от здоровых лиц, так и дифференцирования нозологических форм, стадий ВЗК, а также в качестве биомаркеров предикции обострения. Вероятно, дальнейшие исследования в данном направлении перспективны для целей ранней диагностики, мониторинга пациентов с ВЗК, своевременной коррекции проводимой терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования продемонстрировали, что у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника имеются особенности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, связанные как с нозологической формой ВЗК, так и стадией заболевания. Выявленные различия в показателях эритроцитов, вероятно, отражают различный фон цитокинов и других маркеров воспаления при язвенном колите и болезни Крона, в том числе, уровня гепсидина, ассоциированного с наличием анемий различного генеза. Наблюдаемые изменения в электрических и вязкоупругих параметрах являются более ранними, чем сдвиги, выявляемые рутинными показателями. Это определяет возможность проведения ранней диагностики ВЗК и их различных нозологических форм, определить активность, предсказать течение и начать терапию в максимально ранние сроки до развития явных клинических, биохимических, эндоскопических признаков.

Изменения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов определяют, в том числе, местные и системные нарушения микроциркуляции, что значимо для прогрессирования ВЗК и их осложнений. Поэтому терапевтические подходы, направленные на улучшение способности клеток красной крови к деформации, снижению агрегатообразования, гемолиза, повышению поверхностного заряда эритроцитов, вероятно, могут оптимизировать лечение ВЗК.

Адекватный мониторинг ВЗК, основанный на своевременном и разумном использовании неинвазивных маркеров активности, в частности, электрических, вязкоупругих параметров эритроцитов – с последующим внедрением соответствующих методов лечения, является наилучшим инструментом для изменения течения ВЗК.

Терапия в зависимости от индивидуального прогноза течения ВЗК, основанного на надежных прогностических факторах, представляется оптимальной тактикой при ВЗК.

ВЫВОДЫ

1. Эритроциты пациентов с ВЗК отличаются от эритроцитов лиц контрольной группы сниженными амплитудой деформации клеток, скоростью движения к электродам, поляризуемостью на всех частотах электрического поля, и более высокими обобщенными показателями вязкости, жесткости, индексами агрегации и деструкции ($p < 0,0001–0,001$).

2. Эритроциты больных с язвенным колитом отличались от клеток красной крови пациентов с болезнью Крона более низкими уровнями среднего диаметра клеток, обобщенных вязкости, жесткости, электропроводности, индекса агрегации и более высокими амплитудой деформации эритроцитов, скоростью движения клеток к электродам, емкостью мембран ($p = 0,001–0,05$). У пациентов с активным неклассифицируемым колитом часть значений электрических параметров эритроцитов (относительная поляризуемость, электропроводность, емкость мембран, положение равновесной частоты) занимали промежуточное положение между показателями пациентов с ЯК и БК. Такие параметры эритроцитов, как средний диаметр клеток, доля дискоцитов, сфероцитарных, деформированных форм, характер поверхности клеток, амплитуда деформации клеток на высоких частотах, обобщенные показатели вязкости, жесткости, индекс агрегации, величина дипольного момента и скорость движения к электродам , у пациентов с неклассифицированным колитом в стадии обострения приближались к соответствующим показателям при активной болезни Крона, но достоверно отличались от таковых при язвенном колите ($p = 0,00001–0,038$).

3. Выявленные различия в показателях эритроцитов у пациентов с ЯК и БК могут быть обусловлены преобладанием ЖДА при язвенном колите и анемии хронических воспалительных заболеваний и анемии смешанного генеза при БК (F 3,392); ($p = 0,049$); хи-квадрат 15,187; ($p < 0,01$).

4. Активность ВЗК прямо ассоциирована с долей деформированных клеток, высокими уровнями обобщенных вязкости, жесткости, электропроводности,

индексов агрегации, деструкции, смещением равновесной частоты в высокочастотный диапазон и обратно коррелирует с амплитудой деформации, поляризуемостью на высоких частотах, емкостью, скоростью движения к электродам и величиной дипольного момента ($p < 0,001–0,02$). Выявленные изменения коррелируют с уровнями белков острой фазы (СРБ, фибриноген, ферритин) и сдвигами в структуре мембран эритроцитов.

5. Предложенный способ определения активности ВЗК, основанный на комплексном использовании 8 наиболее значимых вязкоупругих параметров эритроцитов (средний диаметр клетки, скорость поступательного движения к электродам, поляризуемость на частоте 1 МГц, положение равновесной частоты, электропроводность, обобщенные показатели вязкости и жесткости, амплитуда деформации) и уровня фекального кальпротектина (отражающего наличие воспалительного процесса именно в кишке) превышает диагностические возможности изолированного их применения и позволяет отличать стадию обострения ВЗК от ремиссии с чувствительностью 91,9 %, специфичностью 93,1 %, диагностической точностью 92,3 %.

6. Установлен перечень параметров эритроцитов, являющихся предикторами обострения ВЗК: доля деформированных клеток, величина дипольного момента, электропроводность мембран, скорость поступательного движения эритроцитов к электродам, характер поверхности клеток, степень изменения амплитуды деформации на частоте (5×10^5) Гц, емкость мембран эритроцитов ($p = 0,0,0004–0,029$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Пациентам с ВЗК целесообразно исследовать электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов как дополнительные неинвазивные биомаркеры с целью:

а) верификации диагноза (определения нозологической формы, активности, прогноза течения) для раннего выбора адекватной терапии;

б) мониторинга за течением заболевания для своевременной коррекции назначенного лечения и достижения конечных целей (заживления слизистой, трансмурального заживления при БК, профилактики осложнений, повышения качества жизни).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АЛТ	аланинаминотрансфераза
АМК	аминокислоты
АН	анемия
антитела к OmpC	антитела к порину наружной мембраны Escherichia coli
АСТ	аспартатаминотрансфераза
АТФ	аденозинтрифосфорная кислота
АХЗ	анемия хронического заболевания
БК	болезнь Крона
ВЗК	воспалительные заболевания кишечника
ВКП	внекишечные проявления
Гамма ГТ (ГГТП)	гамма-глютамилтранспептидаза
ГКС	глюкокортикостероидами
ДЭФ	диэлектрофореза
ЖДА	железодефицитная анемия
ЖКТ	желудочно-кишечного тракта
ИАБК	индекс активности болезни Крона
ИПН	исследование под наркозом
ИФА	метод иммуноферментного анализа
КТ	компьютерная томография
ЛПВП	липопротеинов высокой плотности
МРТ	магнитно-резонансная томография
НВЗК	неклассифицируемое воспалительное заболевание кишечника
НКК	неклассифицируемый колит
НПЭП	неоднородное переменное электрическое поле
НТЖ	процент насыщения трансферрина железом

ОХС	общий холестерин
ПРАР	подвздошно-резервуаро-анальной реконструкцией
СОЭ	скорость оседания эритроцитов
СРБ	С-реактивный белок
ТГ	триглицериды
УЗИ	ультразвуковое исследование
ФНО	фактор некроза опухоли
ХВЗК	хронические воспалительные заболевания кишечника
ЩФ	щелочная фосфатаза
ЯК	язвенный колит
Anti-C	анти-хитин IgA
Anti-L	анти-ламинарин IgA
ASA	аминосалициловая кислота
ASCA	антитела к дрожжам Saccharomyces cerevisiae
AUC	площадь под кривой
AΣMA	синтетические анти-маннозные антитела
CDAI	индекс активности болезни Крона
CDEIS	индекс эндоскопической активности БК
CI ДИ	доверительный интервал
cut-off	порог, точка отсечения
Hb	гемоглобина
MaRIA	(Magnetic Resonance Index of Activity)магнитно-резонансный индекс активности
MCH	среднее содержание гемоглобина в 1 эритроците
MCHC	среднее содержание гемоглобина в эритроцитах
MCHr	среднее содержание гемоглобина в ретикулоцитах
MCV	корпускулярный объем эритроцита
Me	медиана

NOD2	ген
OmpC	порин внешней мембраны
OR ОШ	отношение шансов
pANCA	перинуклеарные антинейтрофильные цитоплазматические антитела
PCA	анализ основных компонентов
RDW	ширина распределения эритроцитов
REACT	(Randomised Evaluation of an Algorithm for Crohn’s Treatment) рандомизированная оценка алгоритма лечения Крона
ROC-анализ	(receiver operating characteristic) рабочая характеристика приемника)
SD	стандартное отклонение
SES CD	(Simple Endoscopic Score for Crohn's Disease) простой эндоскопический индекс болезни Крона
TNF-a	фактор некроза опухоли-а
M	среднее значение

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ассоциации параметров эритроцитов с уровнем вирусной нагрузки у пациентов с хроническим вирусным гепатитом С / М. В. Кручинина, С. А. Курилович, М. И. Воевода [и др.] // Вестник НГУ. Серия : Биология, клин. медицина – 2015. – Т. 13, вып. 2. – С. 5–17.

2. Белоусова, Е. А. Рекомендации по диагностике и лечению болезни Крона / Е. А. Белоусова // Фарматека. – 2009. – Т. 187, № 13. – С. 38–44.

3. Возможности использования электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов в диагностике хронических воспалительных заболеваний кишечника / М. В. Кручинина, Н. В. Абалтусова, И. О. Светлова // Гепатология сегодня : материалы 23-й Объединенной Российской Гастроэнтерологической Недели (Москва, 10–11 сент., 2017 г.) // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Приложение. – 2017. – Т. 27, № 5 S50. – С. 37.

4. Воспалительные заболевания кишечника. Клинические, эндоскопические, морфологические аспекты диагностики. Принципы современной терапии / О. В. Головенко, С. Г. Хомерики, Е. В. Иванова, Е. Д. Федоров. – Москва : Прима Принт, 2017. – 180 с. – ISBN 978-5-9907557-3-4.

5. Вязкоэластические и электрические параметры эритроцитов при синдроме Жильбера / С. А. Курилович, Е. Г. Немцова, М. В. Кручинина, В. Н. Максимов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2015. – № 11. – С. 28–33.

6. Геннис, Р. Биомембраны : Молекулярная структура и функции / Москва : Мир, 1997. – 624 с.

7. Диэлектрофорез в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний / В. М. Генералов, М. В. Кручинина, А. Г. Дурыманов [и др.]. – Новосибирск : ЦЭРИС, 2011. – 172 с. – ISBN 978-5-7007-0256-4

8. Диэлектрофорез эритроцитов в диагностике диффузных заболеваний печени различной этиологии / М. В. Кручинина, В. М. Генералов, С. А. Курилович, А. А. Громов // Архив внутренней медицины. – 2011. – № 2. – С. 58–63.

9. К вопросу о дифференциальной диагностике алкогольной и неалкогольной жировой болезни печени / М. В. Кручинина, С. А. Курилович, А. А. Громов [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 7. – С. 36–45.

10. Клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Крона у взрослых (Проект) / В. Т. Ивашкин, Ю. А. Шелыгин, Д. И. Абдулганиева [и др.]. – DOI: 10.33878/2073-7556-2020-19-2-8-38. – Текст : электронный // Колопроктология. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 8–38. – URL : https://www.elibrary.ru/download/elibrary_42904542_75012643.pdf (дата обращения: 21.07.2021).

11. Новицкий, В. В. Физиология и патофизиология эритроцита / В. В. Новицкий, Н. В. Рязанцева, Е. А. Степовая. – Томск : Наука, 2004. – 202 с. – ISBN: 5-7511-1807-3.

12. Особенности параметров эритроцитов при циррозах печени: эритроциты – «свидетели» или «виновники» прогрессирования фиброза печени? / С. А. Курилович, М. В. Кручинина, А. А. Громов [и др.] // Сучасна гастроентерология. –2013. – № 1. – С. 30–40.

13. Реологические свойства крови при лечении злокачественных опухолей, атеросклероза и диабета / А. В. Муравьев, И. А. Тихомирова, С В.Булаева, Петроченко Е. П. – Ярославл : Канцлер, 2016. – 161 с. – ISBN: 978-5-91730-607-0

14. Физиология и патология гемостаза: учеб. пособие / под ред. Н. И. Стуклова. – Москва : ГЕОТАР-Медиа, 2016. – 112 с. – ISBN: 978-5-9704-3625-7.

15. Хронический вирусный гепатит В: взаимосвязь электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов с вирусной активностью / М. В. Кручинина, С. А. Курилович, М. И. Воевода [и др.] // Архив внутренней медицины. – 2014. – № 4. – С. 64–71.

16. Черницкий, Е. А. Структура и функция эритроцитарных мембран / Е. А. Черницкий, А. В. Воробей. – Минск : Наука и техника, 1981. – 215 с.

17. Шиффман, Ф. Д. Патофизиология крови / Ф. Д. Шиффман ; пер с англ. Е. Б. Жибурта, Ю. Н. Токарева. – Москва–Санкт-Петербург : БИНОМ–Невский диалог, 2000. – 448 с.

18. Язвенный колит. Клинические рекомендации / Российская гастроэнтерологическая ассоциация; Ассоциация колопроктологов России [утв. Минздравом России 2020] – Москва, 2020. – 56 с. – URL : https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-iazvennyi-kolit-utv-minzdravom-rossii/ (дата обращения: 25.07.2021). – Текст : электронный.

19. A coarse-grained red blood cell membrane model to study stomatocyte-discocyte-echinocyte morphologies / N. M. Geekiyanage, M. A. Balanant, E. Sauret [et al.]. – DOI: 10.1371/journal.pone.0215447. – Text : electronic // PLoS ONE. – 2019. – Vol. 14, N 4. – P. e0215447. – URL : https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215447 (date of access: 13.08.2021).

20. A comparison of methotrexate with placebo for the maintenance of remission in Crohn’s disease North American Crohn’s Study Group Investigators / B. G. Feagan, R. N. Fedorak, E. J. Irvine [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 342. – P. 1627–1632.

21. A meta-analysis of the utility of C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, fecal calprotectin, and fecal lactoferrin to exclude inflammatory bowel disease in adults with IBS / S. B. Menees, C. Powell, J. Kurlander [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 110, N 3. – P. 444–454.

22. A new rapid test for fecal calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn’s disease / T. Lobaton, A. Lopez-Garcia,

F. Rodriguez-Moranta [et al.] // J. Crohns Colitis. – 2013. – Vol. 7, N 2. – P. e641–e651.

23. A prospective evaluation of the long-term outcome of ileal pouch-anal anastomosis in patients with inflammatory bowel disease-unclassified and indeterminate colitis / Z. A. Murrell, G. Y. Melmed, A. Ippoliti [et al.]. – DOI: 10.1007/DCR.0b013e31819f5d4c. – Text : electronic // Dis. Colon Rectum. – 2009. – Vol. 52, N 5. – P. 872–878. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19502850/ (date of access: 18.07.2021).

24. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis / K. Geboes, R. Riddell, A. Ost [et al.] // Gut. – 2000. – Vol. 47, N 3. – P. 404–409.

25. Abraham, B. P. Natural history of pediatric-onset inflammatory bowel disease: a systematic review / B. P. Abraham, S. Mehta, H. B. El-Serag // J. Clin. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 46, N 7. – P. 581–589.

26. ACG Clinical Guideline: Management of Crohn's Disease in Adults / G. R. Lichtenstein, E. V. Loftus, K. L. Isaacs [et al.]. – DOI: 10.1038/ajg.2018.27. – Text : electronic // Am. J. Gastroenterol. – 2018. – Vol. 113, N 4. – P. 481–517. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29610508/ (date of access: 08.08.2021).

27. ACG Clinical Guideline: Ulcerative Colitis in Adults / D. T. Rubin, A. N. Ananthakrishnan, C. A. Siegel [et al.]. – DOI: 10.14309/ajg.0000000000000152. – Text : electronic // Am. J. Gastroenterol. – 2019. – Vol. 114, N 3. – P. 384–413. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30840605/ (date of access: 11.07.2021).

28. Adalimumab induces and maintains mucosal healing in patients with Crohn’s disease: data from the EXTEND trial / P. Rutgeerts, G. van Assche, W. J. Sandborn [et al.]. – DOI: 10.1053/ j.gastro.2012.01.035. – Text : electronic // Gastroenterology. – 2012. – Vol. 142, N 5. – P. 1102–1111.e2. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22326435/ (date of access: 17.08.2021).

29. Alamin, A. A. The Role of Red Blood Cells in Hemostasis / A. A. Alamin // Semin. Thromb. Hemost. – 2021. – Vol. 47, N 1. – P. 26–31.

30. Allen, P. B. Moving towards disease modification in inflammatory bowel disease therapy / P. B. Allen, L. Peyrin-Biroulet. – DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283622914. – Text : electronic // Curr. Opin. Gastroenterol. – 2013. – Vol. 29, N 4. – P. 397–404. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23695427/ (date of access: 16.08.2021).

31. Alterations in Lipid, Amino Acid, and Energy Metabolism Distinguish Crohn's Disease from Ulcerative Colitis and Control Subjects by Serum Metabolomic Profiling / E. A. Scoville, M. M. Allaman, C. T. Brown [et al.] // Metabolomics. – 2018. – Vol. 14, N 11. – P. 17.

32. American Gastroenterological Association Clinical Practice Committee. American Gastroenterological Association medical position statement: perianal Crohn's disease // Gastroenterology. – 2003. – Vol. 125, N 5. – P. 1503–1507.

33. American Gastroenterological Association Institute medical position statement on corticosteroids, immunomodulators, and infliximab in inflammatory bowel disease / G. R. Lichtenstein, M. T. Abreu, R. Cohen, W. Tremaine ; American Gastroenterological Association. – DOI: 10.1053/j.gastro.2006.01.047. – Text : electronic // Gastroenterology. – 2006. – Vol. 130, N 3. – P. 935–939. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16530531/ (date of access: 08.08.2021).

34. Analysis of the outcome of ileal pouch-anal anastomosis in patients with Crohn's disease / J. E. Hartley, V. W. Fazio, F. H. Remzi [et al.] // Dis. Colon. Rectum. – 2004. – Vol. 47, N 11. – P. 1808–1815.

35. Andrews, N. C. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link / N. C. Andrews. – DOI: 10.1172/JCI21441. – Text : electronic // J. Clin. Invest. – 2004. – Vol. 113, N 9. – P. 1251–1253. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15124013/ (date of access: 16.08.2021).

36. Antibodies against laminaribioside and chitobioside are novel serologic markers in Crohn's disease / I. Dotan, S. Fishman, Y. Dgani [et al.] // Gastroenterology. – 2006. – Vol. 131. – P. 366–378.

37. Antiglycan antibodies as serological markers in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease / D. Simondi, G. Mengozzi, S. Betteto [et al.]. – DOI : 10.1038/ajg.2009.79. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2008. – Vol. 14, N 5. – P. 645–651. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18240283/ (date of access: 17.08.2021).

38. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. Comparison with other colitides/diarrheal illnesses / R. H. Duerr, S. R. Targan, C. J. Landers [et al.] // Gastroenterology. – 1991. – Vol. 100. – P. 1590–1596.

39. Anti-outer membrane of porin C and anti-I2 antibodies in indeterminate colitis / S. Joossens, J. F. Colombel, C. Landers [et al.] // Gut. – 2006. – Vol. 55, N 11. – P. 1667–1669.

40. Anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease / E. Israeli, I. Grotto, B. Gilburd [et al.] // Gut. – 2005. – Vol. 54, N 9. – P. 1232–1236.

41. Apoptosis, necrosis and necroptosis: cell death regulation in the intestinal epithelium / C. Günther, H. Neumann, M. F. Neurath, C. Becker. – DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301364. – Text : electronic // Gut. – 2013. – Vol. 62. – N 7. – P. 1062–1071. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22689519/ (date of access: 13.08.2021).

42. Application of optical methods in blood studies upon evaluation of severity rate of diffuse liver pathology / M. Kruchinina, M. Voevoda, S. Peltek [et al.]. – DOI: 10.4236/jasmi.2013.32014. – Text : electronic // J. Anal. Sci. Meth. Instrum. – 2013. – Vol. 3, N 2. – P. 115–123. – URL : https://www.researchgate.net/publication/273986570 (date of access: 12.08.2021).

43. Assessment of disease activity in ulcerative colitis by faecal calprotectin, a novel granulocyte marker protein / A. G. Røseth, E. Aadland, J. Jahnsen, N. Raknerud // Digestion. – 1997. – Vol. 58, N 2. – P. 176–180.

44. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study / A. G. Røseth, M. K. Fagerhol, E. Aadland, H. Schjønsby // Scand. J. Gastroenterol. – 1992. – Vol. 27, N 9. – P. 793–798.

45. Association between red blood cell distribution width and in-hospital mortality in acute myocardial infarction / S. Huang, Q. Zhou, N. Guo [et al.]. – DOI: 10.1097/MD.0000000000025404. – Text : electronic // Med. (Baltimore). – 2021. – Vol. 100, N 15. – P. e25404. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33847638/ (date of access: 16.08.2021).

46. Association of the novel serologic anti-glycan antibodies anti-laminarin and anti-chitin with complicated Crohn's disease behavior / F. Rieder, S. Schleder, A. Wolf [et al.]. – DOI: 10.1002/ibd.21046. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2010. – Vol. 16, N 2. – P. 263–274. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov /19653286/ (date of access: 17.08.2021).

47. Atkinson, K. G. Restorative proctocolectomy and indeterminate colitis / K. G. Atkinson, D. A. Owen, G. Wankling // Am. J. Surg. – 1994. – Vol. 167. – P. 516–518.

48. Axelrad, J. E. Diagnosis and management of inflammatory bowel disease-associated neoplasia: considerations in the modern era / J. E. Axelrad, S. C. Shah. – DOI: 10.1177/1756284820920779. – Text : electronic // Ther. Adv. Gastroenterol. – 2020. – Vol. 6, N 13. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32523622/ (date of access: 17.08.2021).

49. Beaugerie, L. Immunosuppression-related lymphomas and cancers in IBD: how can they be prevented? / L. Beaugerie. – DOI: 10.1159/000338144. – Text : electronic // Dig. Dis. – 2012. – Vol. 30, N 4. – P. 415–419. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22796808/ (date of access: 17.08.2021).

50. Beutler, E. The definition of anemia: what is the lower limit of normalof the blood hemoglobin concentration? / E. Beutler, J. Waalen // Blood. – 2006. – Vol. 107, N 5. – P. 1747–1750.

51. Beyond endoscopic mucosal healing in UC: histological remission better predicts corticosteroid use and hospitalisation over 6 years of follow-up / R. V. Bryant, D. C. Burger, J. Delo [et al.] // Gut. – 2016. – Vol. 65, N 3. – P. 408–414.

52. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework // Clin. Pharmacol. Ther. – 2001. – Vol. 69, N 3. – P. 89–95.

53. Both preoperative perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody and anti-CBir1 expression in ulcerative colitis patients influence pouchitis development after ileal pouch-anal anastomosis / P. Fleshner, A. Ippoliti, M. Dubinsky [et al.] . – DOI: 10.1016/j.cgh.2008.01.002. – Text : electronic // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2008. – Vol. 6, N 5. – P. 561–568. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18378498/ (date of access: 13.08.2021).

54. Bouguen, G. Surgery for adult Crohn' s disease: what is the actual risk? / G. Bouguen, L. Peyrin-Biroulet. – DOI: 10.1136/gut.2010.234617. – Text : electronic // Gut. – 2011. – Vol. 60, N 9. – P. 1178–1181. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21610273/ (date of access: 17.08.2021).

55. Breiman, L. Random Forests / L. Breiman. – DOI: 10.1023/A:1010933404324. – Text : electronic // Machine Learning. – 2001. – Vol. 45. – P. 5–32. – URL https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1734556 (date of access: 17.08.2021).

56. Cabriadac Reticulocyte hemoglobin content (MCHr) in the assessment of iron deficient erythropoiesis in inflammatory bowel disease / E. Urrechaga, J. J. M. L. Hoffmannb, A. Bernalc [et al.]. – DOI: 10.1016/j.dld.2018.04.010. – Text : electronic // Dig. Liver Dis. – 2018. – Vol. 50, N 11. – P. 1178-1182. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29759803/ (date of access: 12.08.2021).

57. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease / F. Costa, M. G. Mumolo, L. Ceccarelli [et al.] // Gut. – 2005. – Vol. 54, N 3. – P. 364–368.

58. Can red cell dis-tribution width be used as a marker of Crohn's disease activity? / A. M. Oliveira, F. S. Cardoso, C. G. Rodrigues [et al.] // GE Port. J. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 23, N 1. – P. 6–12.

59. Chemokine and cytokine levels in inflammatory bowel disease patients / U. P. Singh, N. P. Singh, E. A. Murphy [et al.]. – DOI : 10.1016/j.cyto.2015.10.008. – Text : electronic // Cytokine. – 2016. – Vol. 77. – P. 44–49. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26520877/ (date of access: 17.08.2021).

60. Cheng, K. Venous thromboembolism in inflammatory bowel disease / K. Cheng, A. S. Faye. – DOI: 10.3748/wjg.v26.i12.1231. – Text : electronic // World J. Gastroenterol. – 2020. – Vol. 26, N 12. – P. 1231–1241. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32256013/ (date of access: 12.08.2021).

61. Classical and recent advances in the treatment of inflammatory bowel diseases / H. Sales-Campos, P. J. Basso, V. B. Alves [et al.]. – DOI: 10.1590/1414-431X20143774. – Text : electronic // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2015. – Vol. 48, N 2. – P. 96–107. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25466162/ (date of access: 17.08.2021).

62. Classification Tree Analysis of Factors Associated with Oral Cancer Exampp / S. Ge, H. Lu, Q. Li // Am. J. Health Behav. – 2019. – Vol. 43, N 3. – P. 635–647.

63. Clinical and laboratory indicators of extent of ulcerative colitis. Serum C-reactive protein helps the most / C. Prantera, M. Davoli, R. Lorenzetti [et al.] // J. Clin. Gastroenterol. – 1988. – Vol. 10, N 1. – P. 41–45.

64. Clinical implications of mucosal healing in the management of patients with inflammatory bowel disease / A. Orlando, F. W. Guglielmi, M. Cottone [et al.]. – DOI: 10.1016/j.dld.2013.07.005. – Text : electronic // Dig. Liver. Dis. – 2013. – Vol. 45, N 12. – P. 986–991. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23993738/ (date of access: 18.07.2021).

65. Colombel, J.-F. Management Strategies to Improve Outcomes of Patients With Inflammatory Bowel Diseases / J.-F. Colombel, N. Narula, L. Peyrin-Biroulet // Gastroenterology. – 2017. – Vol. 152, N 2. – P. 351–361.e5.

66. Colonoscopy of acute colitis. A safe and reliable tool for assessment of severity / F. Carbonnel, A. Lavergne, M. Lemann [et al.] // Dig. Dis. Sci. – 1994. – Vol. 39, N 7. – P. 1550–1557.

67. Cominelli, F. Inhibition of leukocyte trafficking in in- flammatory bowel disease / F. Cominelli. – DOI: 10.1056/NEJMe1307415. – Text : electronic // N. Engl. J. Med. – 2013. – Vol. 369, N 8. – P. 775–776. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23964940/ (date of access: 11.07.2021).

68. Comparative study of ASCA (Anti-Saccharomyces cerevisiae antibody) assays in inflammatory bowel disease / S. Vermeire, S. Joossens, M. Peeters [et al.] // Gastroenterology. – 2001. – Vol. 120, N 4. – P. 827–833.

69. Connelly, T. M. The surgical treatment of inflammatory bowel disease-associated dysplasia / T. M. Connelly, W. A. Koltun. – DOI: 10.1586/egh.13.17. – Text : electronic // Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2013. – Vol. 7, N 4. – P. 307–321. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23639089/ (date of access: 11.07.2021).

70. Consequences of ileal pouch-anal anastomosis for Crohn’s colitis / N. H. Hyman, V. W. Fazio, W. B. Tuckson, I. C. Lavery // Dis. Colon Rectum. – 1991; Vol. 34, N 8. – P. 653–657.

71. Contribution of clinical correlates and 13 C-reactive protein gene polymorphisms to interindividual variability in serum C- reactive protein level / S. Kathiresan, M. G. Larson, R. S. Vasan [et al.] // Circulation. – 2006. – Vol. 113, N 11. – P. 1415–1423.

72. Coremans, L. Venous thromboembolism in patients with inflammatory bowel disease : review of literature and practical algorithms / L. Coremans, B. Strubbe, H. Peeters. – DOI: 10.51821/84.1.910. – Text : electronic // Acta Gastroenterol. Belg. – 2021. – Vol. 84, N 1. – P. 79–85. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33639697/ (date of access: 11.07.2021).

73. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease / C. A. Solem, E. V. Loftus, W. J. Tremaine [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. – 2005. – Vol. 11, N 8. – P. 707–712.

74. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings / T. Sipponen, P. Kärkkäinen, E. Savilahti [et al.]. – DOI : 10.1111/ j.1365-2036.2008.03835.x. – Text : electronic // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2008. – Vol. 28, N 10. – P. 1221–1229. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18752630/ (date of access: 17.08.2021).

75. C-reactive protein, fecal calprotectin, and stool lactoferrin for detection of endoscopic activity in symptomatic inflammatory bowel disease patients: a systematic review and meta-analysis / M. H. Mosli, G. Zou, S. K. Garg [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 110, N 6. – P. 802–819.

76. C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study / M. Henriksen, J. Jahnsen, I. Lygren [et al.]. – DOI: 10.1136/ gut.2007.146357. – Text : electronic // Gut. – 2008. – Vol. 57, N 11. – P. 1518–1523. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18566104/ (date of access: 16.07.2021).

77. Crohn's disease and indeterminate colitis and the ileal pouch-anal anastomosis: outcomes and patterns of failure / C. J. Brown, A. R. Maclean, Z. Cohen [et al.] // Dis Colon Rectum. – 2005. – Vol. 48, N 8. – P. 1542–1549.

78. Cucino, C. Cause of death in patients with inflammatory boweldisease / C. Cucino, A. Sonnenberg // Inflamm. Bowel Dis. – 2001. – Vol. 7, N 3. – P. 250–255.

79. Danielsson D, Järnerot G. Autoantibodies and immunoglobulins in collagenous colitis / J. Bohr, C. Tysk, P. Yang [et al.] // Gut. – 1996. – N 39. – P. 73–76.

80. De Vroey, B. Exploring life before IBD / B. de Vroey, C. Gower-Rousseau, J. F. Colombel. – DOI: 10.1136/gutjnl-2012-30324. – Text : electronic // Gut. – 2013. – Vol. 62, N 5. – P. 662–663. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22936675/ (date of access: 18.07.2021).

81. Definition and evaluation of mucosal healing in clinical practice / S. Mazzuoli, F. W. Guglielmi, E. Antonelli [et al.]. – DOI: 10.1016/j.dld.2013.06.010. – Text : electronic // Dig. Liver Dis. – 2013. – Vol. 45, N 12. – P. 969–977. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23932331/ (date of access: 17.08.2021).

82. Detection of antisynthetic mannoside antibodies (ASigmaMA) reveals heterogeneity in the ASCA response of Crohn’s disease patients and contributes to differential diagnosis, stratification, and prediction / P. Vandewalle-El-Khoury, J. F. Colombel, S. Joossens [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 103, N 4. – P. 949–957.

83. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study / W. R. Best, J. M. Becktel, J. W. Singleton, F. Jr. Kern // Gastroenterology. – 1976. – Vol. 70, N 3. – P. 439–444.

84. Diagnosis and treatment of anemia in patients with inflammatory bowel disease / V. Mücke, M. M. Mücke, T. Raine, D. Bettenworth. – DOI: 10.20524/aog.2016.0083. – Text : electronic // Ann. Gastroenterol. – 2017. – Vol. 30, N 1. – P. 15–22. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28042234/ (date of access: 18.07.2021).

85. Diagnosis and treatment of iron deficiency anemia in patients with inflammatory bowel disease and gastrointestinal bleeding: iron deficiency anemia working group consensus report / H. Akpınar, M Çetiner, S. Keshav. – DOI: 10.1055/s-0040-1718889. – Text : electronic // Turk. J. Gastroenterol. – 2017. – Vol. 28, N 2. – P. 81–87. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28119272/ (date of access: 16.08.2021).

86. Diagnostic accuracy of serological assays in pediatric inflammatory bowel disease / F. M. Ruemmele, S. R. Targan, G. Levy // Gastroenterology. – 1998. – Vol. 115, N 4. – P. 822–829.

87. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease /

G. E. Reese, V. A. Constantinides, C. Simillis [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2006. – Vol. 101, N 10. – P. 2410–2422.

88. Diagnostic role and clinical correlates of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) and anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) in Italian patients with inflammatory bowel diseases / S. Saibeni, C. Folli, R. Franchis de [et al.] // Dig. Liver Dis. – 2003. – Vol. 35, N 12. – P. 862–868.

89. Diagnostic value of anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease / M. Peeters, S. Joossens, S. Vermeire [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 96, N 3. – P. 730–734.

90. Differential diagnosis in inflammatory bowel disease colitis: state of the art and future perspectives / G. E. Tontini, M. Vecchi, L. Pastorelli [et al.]. – DOI: 10.3748/wjg.v21.i1.21. – Text : electronic // World J. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 21, N 1. – P. 21–46. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25574078/ (date of access: 12.08.2021).

91. Do antibodies have a role in IBD pathogenesis? / M. Vecchi, L. Spina, F. Cavallaro, L. Pastorelli. – DOI: 10.1002/ibd.20699. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2008. – Vol. 14, Suppl 2. – P. S95–S96. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18816674/ (date of access: 17.08.2021).

92. Do patient preferences influence decisions on treatment for patients with steroid-refractory ulcerative colitis? / K. O. Arseneau, S. Sultan, D. T. Provenzale [et al.] // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2006. – N 4. – P. 1135–1142.

93. Dotan, I. NOD2 and pouch complications in UC patients: old-world clinical dogmas give way to biological definitions / I. Dotan, S. E. Plevy. – DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303188. – Text : electronic // Gut. – 2013. – Vol. 62, N 10. – P. 1390–1391. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23292664/ (date of access: 12.08.2021).

94. East-West gradient in the incidence of inflammatory bowel disease in Europe: the ECCO-EpiCom inception cohort / J. Burisch, N. Pedersen, S. Čuković-Čavka [et al.]. – DOI: 10.1136/gutjnl-2013-304636. – Text : electronic // Gut. – 2014. –

Vol. 63, N 4. – P. 588–597. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23604131/ (date of access: 16.07.2021).

95. ECCO – ESGAR Guideline for Diagnostic Assess-ment in IBD. Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications / C. Maaser, A. Sturm, S. R. Vavricka [et al.] // J. Crohns Colitis.. – Vol. 13, N 2. – P. 144–164.

96. ECCO – ESGAR Guideline for Diagnostic Assess-ment in IBD. Part 2: IBD scores and general principles and technical aspects / C. Maaser, A. Sturm, S. R. Vavricka [et al.] // J. Crohns Colitis. – 2019. – Vol. 13, N 2. – P. 273–284.

97. Effects of anti-TNF-alpha therapy on hemoglobin levels and anemia in patients with inflammatory bowel disease / A. J. Lucendo, Ó. Roncero, M. T. Serrano-Duenas [et al.]. – DOI: 10.1016/j.dld.2019.11.019. – Text : electronic // Dig. Liver Dis. – 2020. –Vol. 52, N 4. – P. 400–407. – URL : https://doi.org/10.1016/j.dld.2019.11.019 (date of access: 16.08.2021).

98. Effects of changes in hemoglobin level onquality of life and cognitive function in inflammatory bowel disease patients / C. W. Wells, S. Lewis, J. R. Barton [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. – 2006. – Vol. 12, N 1. – P. 123–130.

99. Endoscopy in inflammatory bowel disease: from guidelines to real life / L. Negreanu, T. Voiosu, M. State [et al.]. – DOI: 10.1177/1756284819865153. – Text : electronic // Ther. Adv. Gastroenterol. – 2019. – N 12. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31384307/ (date of access: 18.07.2021).

100. Erythrocyte microRNAs show biomarker potential and implicate multiple sclerosis susceptibility genes / K. Groen, V. E. Maltby, R. J. Scott [et al.]. – DOI: doi:10.1002/ctm2.22. – Text : electronic // Clin. Transl. Med. – 2020. – Vol. 10, N 1. – P. 74–90. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32508012/ (date of access: 13.08.2021).

101. Erythroid precursors and progenitors suppress adaptive immunity and get invaded by SARS-CoV-2 / S. Shahbaz, L. Xu, M. Osman [et al.]. – DOI : 10.1016/j.stemcr.2021.04.001. – Text : electronic // Stem Cell Res. – 2021. – Vol. 16,

N 5. – P. 1165–1181. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33979601/ (date of access: 08.08.2021).

102. European Crohn’s and Colitis Organisation. European evidence based consensus for endoscopy in inflammatory bowel disease / V. Annese, M. Daperno, M. D. Rutter [et al.]. – DOI: 10.1016/j.crohns.2013.09.016. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2013. – Vol. 7, N 12. – P. 982–1018. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24184171/ (date of access: 16.08.2021).

103. European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease, 3rd 2016: Part 1: Diagnosis and Medical Management / F. Gomollón, A. Dignass, V. Annese [et al.]. – DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjw168. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2017. – Vol. 11, N 1. – P. 3–25. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27660341/ (date of access: 13.08.2021).

104. Evaluation of serologic disease markers in a population-based cohort of patients with ulcerative colitis and Crohn’s disease / W. J. Sandborn, E. V. Loftus, J. F. Colombel [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. – 2001. – Vol. 7, N 3. – P. 192–201.

105. Evidence for continuous stimulation of interleukin-6 production in Crohn’s disease / V. Gross, T. Andus, I. Caesar [et al.] // Gastroenterology. – 1992. – Vol. 102. – P. 514–519.

106. Evolution of the prevalence and char-acteristics of anemia in inflammatory bowel diseases between 1993 and 2003 / A. Vijverman, P. Pironi, J. Belaiche, E. Louis // Acta Gastroenterol. Belg. – 2006. – Vol. 69, N 1. – P. 1–4.

107. Evolutionary changes in the pathologic diagnosis after the ileoanal pouch procedure / P. W. Marcello, D. J. Schoetz, P. L. Roberts [et al.] // Dis. Colon Rectum. – 1997. – Vol. 40, N 3. – P. 263–269.

108. Extraintestinal malignancies in inflammatory bowel disease: results of the 3rd ECCO Pathogenesis Scientific Workshop (III) / F. Magro, L. Peyrin-Biroulet, H. Sokol [et al.]. – DOI: 10.1016/j.crohns.2013.04.006. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2014. – Vol. 8, N 1. – P. 31–44. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23721759/ (date of access: 17.08.2021).

109. Faecal calprotectin assay after induction with anti-tumour necrosis factor alpha agents in inflammatory bowel disease: prediction of clinical response and mucosal healing at one year / L. Guidi, M. Marzo, G. Andrisani [et al.] // Dig. Liver Dis. – 2014. – Vol. 46. – N 11. – P. 974–979.

110. Familial expression of anti-Saccharomyces cerevisiae Mannan antibodies in Crohn's disease and ulcerative colitis: a GISC study / V. Annese, A. Andreoli, A. Andriulli [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2001. – Vol. 96. – P. 2407–2412.

111. Family history and serology predict Crohn's disease after ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis / G. Y. Melmed, P. R. Fleshner, O. Bardakcioglu [et al.] // Dis. Colon Rectum. – 2008. – Vol. 51, N 1. – P. 100–108.

112. Fecal calprotectin and S100A12 have low utility in prediction of small bowel Crohn's disease detected by wireless capsule endoscopy / T. Sipponen, J. Haapamäki, E. Savilahti [et al.]. – DOI : 10.3109/00365521.2012.677953. – Text : electronic // Scand. J. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 47, N 7. – P. 778–784. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22519419/ (date of access: 17.08.2021).

113. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease / G. D'Haens, M. Ferrante, S. Vermeire [et al.]. – DOI: 10.1002/ibd.22917. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. 2012. – Vol. 18, N 12. – P. 2218–2224. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22344983/ (date of access: 18.07.2021).

114. Fecal calprotectin more accurately reflects endoscopic activity of ulcerative colitis than the Lichtiger Index, C-reactive protein, platelets, hemoglobin, and blood leukocytes / A. M. Schoepfer, C. Beglinger, A. Straumann [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. – 2013. – Vol. 19, N 2. – P. 332–341.

115. Fernandes, H. P. Electrical properties of the red blood cell membrane and immunohematological investigation / H. P. Fernandes, C. L. Cesar, M. L. Barjas-Castro de. – DOI: 10.5581/1516-8484.20110080. – Text : electronic // Rev. Bras. Hematol. Hemoter. – 2011. – Vol. 33, N 4. – P. 297–301. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23049321/ (date of access: 18.07.2021).

116. Folate deficiency in Crohn’s disease:incidence, pathogenesis and treatment / A. V. Hoffbrand, J. S. Stewart, C. C. Booth, D L Mollin // Br. Med. J. – 1968. – Br. Med. J. – Vol. 2, N 5595. – P. 71–75.

117. Fraenkel, P. G. Understanding anemia of chronic disease / P. G. Fraenkel. – DOI: 10.1182/asheducation-2015.1.14. – Text : electronic // Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Programa. – 2015. – N 1. – P. 14–18. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26637695/ (date of access: 13.08.2021).

118. Gisbert, J. P. Common misconceptions about 5-aminosalicylates and thiopurines in inflammatory bowel disease / J. P. Gisbert, M. Chaparro, F. Gomollón. – DOI: 10.3748/wjg.v17.i30.3467. – Text : electronic // World J. Gastroenterol. – 2011. – Vol. 17, N 30. – P. 3467–3478. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21941413/ (date of access: 13.08.2021).

119. Gomollón, F. Anemia and inflammatory bowel diseases / F. Gomollón, J. P. Gisbert // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15, N 37. – P. 4659–4665.

120. Guan, Q. A Comprehensive Review and Update on the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease / Q. Guan. – DOI: 10.1155/2019/7247238. – Text : electronic // J. Immunol. Res. – 2019. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31886308/ (date of access: 17.08.2021).

121. Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment / J. Torres, S. Bonovas, G. Doherty [et al.] // J. Crohns. Colitis. – 2020. – Vol. 1, N 14. – P. 4–22.

122. Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatoryboweldisease / A. Nishida, R. Inoue, O. Inatomi [et al.] – DOI: 10.1007/s12328-017-0813-5. – Text : electronic // Clin. J. Gastroenterol. – 2018. – Vol. 11, N 1. – P. 1–10. – URL : ttps://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29285689/ (date of access: 17.08.2021).

123. Heikens, J. T. Quality of life, health-related quality of life and health status in patients having restorative proctocolectomy with ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis: a systematic review / J. T. Heikens, J. Vries de, C. J. van Laarhoven. – DOI: 10.1111/j.1463-1318.2010.02538.x. – Text : electronic // Colorectal Dis. – 2012. –

Vol. 47, N 11. – P. 536–544. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21176062/ (date of access: 16.07.2021).

124. Hepcidin levels predict nonresponsiveness to oral iron therapy in patients with iron deficiency anemia / D. B. Bregman, D. Morris, T. A. Koch [et al.] // Am. J. Hematol. – 2013. – Vol. 88, N 2. – P. 97–101.

125. Hepcidin mediates transcriptional changes that modulate acute cytokine-induced inflammatory responses in mice / I. Domenico De, T. Y. Zhang, C. L. Koening[et al.]. – DOI: 10.1172/JCI42011. – Text : electronic // J. Clin. Invest. – 2010. – Vol. 120, N 7. – P. 2395–2405. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20530874/ (date of access: 11.07.2021).

126. How age and sex affect the erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in early rheumatoid arthritis / L. Siemons, T. P. M. Klooster, H. E. Vonkeman [et al.]. // BMC Musculoskelet. Dis. – 2014. – Vol. 15. – P. 368.

127. Ileal pouch anal anastomosis: analysis of outcome and quality of life in 3707 patients / V. W. Fazio, R. P. Kiran, F. H. Remzi [et al.]. – MA.Ann. Surg. – 2013. Vol. 257, N 4. – P. 679–685. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23299522/ (date of access: 12.08.2021).

128. Ileoanal-pouch reconstruction does not impair sphincter function or quality of life / K. A. Gawad, S. Wenske, T. Schrenck von, J. R. Izbicki // Hepatogastroenterology. – 2007. – Vol. 54. – P. 1477–1482.

129. Immunopathogenesis of inflammatory bowel disease and mechanisms of biological therapies / B. Ahluwalia, L. Moraes, M. K. Magnusson, L. Öhman. – DOI: 10.1080/00365521.2018.1447597. – Text : electronic // Scand. J. Gastroenterol. – Vol. 53, N 4. – P. 379–389. – URL : https://www.researchgate. net/publication/323679519 (date of access: 16.08.2021).

130. Impact of chronic conditions on qual-ity of life in patients with inflammatory bowel disease / L. T. Pizzi, C. M. Weston, N. I. Goldfarb [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. – 2006. – Vol. 12, N 1. – P. 47–55.

131. Improving quality of care in inflammatory bowel disease: what changes can be made today? / J. Panes, M. O'Connor, L. Peyrin-Biroulet [et al.] // J. Crohns Colitis. – 2014. – Vol. 8. – N 9. – P. 919–926.

132. Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia-pacific Crohn's and colitis epidemiology study : Asia-Pacific Crohn's and Colitis Epidemiologic Study (ACCESS) Study Group / S. C. Ng, W. Tang, J. Y. Ching [et al.]. – DOI: 10.1053/j.gastro.2013.04.007. – Text : electronic // Gastroenterology. – 2013. – Vol. 145, N 1. – P. 158–165. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov /23583432/ (date of access: 18.07.2021).

133. Indeterminate colitis. Long-term outcome in patients after ileal pouch-anal anastomosis / P. B. McIntyre, J. H. Pemberton, B. G. Wolff [et al.]. // Dis. Colon Rectum. – 1995. – Vol. 38, N 3. – P. 51–54.

134. Indeterminate colitis: a review of the concept--what's in a name? / K. Geboes, J. F. Colombel, A. Greenstein [et al.] ; Pathology Task Force of the International Organization of Inflammatory Bowel Diseases. – DOI: 10.1002/ibd.20361. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2008. – Vol. 14, N 6. – P. 850–857. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18213696/ (date of access: 13.08.2021).

135. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathology and risk factors for hypercoagulability / D. Owczarek, D. Cibor, M. K. Głowacki [et al.]. – DOI: 10.3748/wjg.v20.i1.53. – Text : electronic // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20. – N 1. – P. 53–63. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24415858/ (date of access: 18.07.2021).

136. Influence of genetic variation in the C-reactive protein gene on the inflammatory response during and after acute coronary ischemia / J. S. Danik, D. I. Chasman, C. P. Cannon [et al.] // Ann. Hum. Genet. – 2006. – Vol. 70. – P. 705–716.

137. Interplay between Erythrocyte Peroxidases and Membrane / B. D. Melo, S. Rocha, S. Coimbra, A. S. Silva. – DOI: 10.5772/intechopen.83590. – Text :

electronic // Erythrocyte. – 2019. – URL : https://www.scinapse.io/papers/2913961437 (date of access: 16.07.2021).

138. Interplay Between Plasma Membrane Lipid Alteration, Oxidative Stress and Calcium-Based Mechanism for Extracellular Vesicle Biogenesis From Erythrocytes During Blood Storage / A.-S. Cloos, M. Ghodsi, A. Stommen [et al.]. – DOI: 10.3389/fphys.2020.00712. – Text : electronic // Front. Physiol. – 2020. – Vol. 11. – P. 712. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32719614/ (date of access: 12.08.2021).

139. Iron deficiency anemia assessment, prevention andcontrol a guide for programme managers. Report / World Health Organization. – 2011. – 132 p. – URL : https://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf (date of access: 18.07.2021). – Text : electronic.

140. Iskandar, H. N. Biomarkers in inflammatory bowel disease: current practices and recent advances / H. N. Iskandar, M. A. Ciorba. – DOI: 10.1016/j.trsl.2012.01.001. – Text : electronic // Transl. Res. – 2012 – Vol. 159, N 4. – P. 313–325. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22424434/ (date of access: 12.08.2021).

141. Jeffery, P. J. Treatment of haemorrhoids in patients with inflammatory bowel disease / P. J. Jeffery, A. G. Parks, J. K. Ritchie // Lancet. – 1977, N 1. – P. 1084–1085.

142. Karsten, E. Red blood cells are dynamic reservoirs of cytokines / E. Karsten, E. Breen, B. R. Herbert. – DOI: 10.1038/s41598-018-21387-w. – Text : electronic // Sci. Rep. – 2018. – Vol. 8, N 1. – P. 3101. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29449599/ (date of access: 12.08.2021).

143. Katsarosa, M. Red cell distribution width as a marker of activity in inflammatory bowel disease: a narrative review / M. Katsarosa, P. Paschosb, O. Gioulemea // Ann. Gastroenterol. – 2020. – Vol. 33, N 4. – P. 348–354.

144. Khanna, R. Ustekinumab for the treatment of Crohn’s disease / R. Khanna, B. G. Feagan. – DOI: 10.2217/imt.13.81. – Text : electronic // Immunotherapy. – 2013.

– Vol. 5, N 8. – P. 803–815. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23902548/ (date of access: 12.08.2021).

145. Kornbluth, A. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update) / A. Kornbluth, D. B. Sachar ; American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee // Am. J. Gastroenterol. – 2004. – Vol. 99, N 7. – P. 1371–1385.

146. Koutroubakis, I. E. The relationship between coagulation state and inflammatory bowel disease: current understanding and clinical implications / I. E. Koutroubakis // Expert Rev. Clin. Immunol. – 2015. – Vol. 11, N 4. – P. 479–488.

147. Kulnigg, S. Systematic review: managing anemia in Crohn' s disease / S. Kulnigg, C. Gasche // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2006. – Vol. 24, N 11–12. – P. 1507–1523.

148. Lakatos, P. L. Serologic antiglycan antibodies in inflammatory bowel disease / P. L. Lakatos, M. Papp, F. Rieder. – DOI: 10.1038/ajg.2010.505. – Text : electronic // Am. J. Gastroenterol. – 2011. – Vol. 106, N 3. – P. 406–412. – URL : https://www.researchgate.net/publication/49765797 (date of access: 12.08.2021).

149. Lee, S. H. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease / S. H. Lee, J. E. Kwon, M. L. Cho. – DOI: 10.5217/ir.2018.16.1.26. – Text : electronic // Intest. Res. – 2018. – Vol. 16, N 1. – P. 26–42. – URL : https://www.researchgate.net/publication/323075420 (date of access: 08.08.2021).

150. Leiman, D. A. Therapy of inflammatory bowel disease: what to expect in the next decade / D. A. Leiman, G. R. Lichtenstein. – DOI: 10.1097/MOG.0000000000000077. – Text : electronic // Curr. Opin. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 30, N 4. – P. 385–390. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24902037/ (date of access: 08.08.2021).

151. Level of fecal calprotectin correlates with endoscopic and histologic inflammation and identifies patients with mucosal healing in ulcerative colitis / K. Theede, S. Holck, P. Ibsen [et al] // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2015. – Vol. 13, N 11. – P. 1929–1936 e1.

152. Lewis, J. D. C-reactive protein: anti-placebo or predictor of response / J. D. Lewis // Gastroenterology. – 2005. – Vol. 129, N 3. – P. 1114–1116.

153. Lewis, J. D. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease / J. D. Lewis. – DOI: 10.1053/ j.gastro.2010.11.058. – Text : electronic // Gastroenterology. – 2011. – Vol. 140, N 6. – P. 1817–1826.e2. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21530748/ (date of access: 08.08.2021).

154. Lichtenstein, G. R. Management of Crohn‘s disease in adults / G. R. Lichtenstein, S. B. Hanauer, W. J. Sandborn. – DOI: 10.1038/ ajg.2008.168. – Text : electronic // Am. J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 104, N 2. – P. 465–483. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19174807/ (date of access: 08.08.2021).

155. Lim, W. C. Aminosalicylates for induction of remission or response in Crohn’s disease / W. C. Lim, S. Hanauer. – DOI: 10.1002/14651858.CD008870. – Text : electronic // Cochrane Database Syst. Rev. – 2010. – N 12. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21154400/ (date of access: 08.08.2021).

156. Lissner, D. Ulcerative colitis: current and future treatment strategies / D. Lissner, B. Siegmund. – DOI: 10.1159/000347194. – Text : electronic // Dig. Dis. – 2013. – Vol. 31, N 1. – P. 91–94. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23797129/ (date of access: 18.07.2021).

157. Litvinov, R. I. Role of red blood cells in haemostasis and thrombosis / R. I. Litvinov, J. W. Weisel // ISBT Sci. Ser. – 2017. – Vol. 12, N 1. – P. 176–183.

158. Loftus, E. V. Jr. Crohn's Disease: Etiology, Complications, Assessment, Therapy, and Management / E. V. Loftus Jr. – DOI: 10.1016/j.gtc.2017.06.001. – Text : electronic // Gastroenterol. Clin. North Am. – 2017. – Vol. 46, N 3. – P. 13–15. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28838422/ (date of access: 17.08.2021).

159. Loly, C. Predictors of severe Crohn’s disease / C. Loly, J. Belaiche, E. Louis // Scand. J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 43, N 8. – P. 948–954.

160. Long-term functional outcome and quality of life after stapled restorative proctocolectomy / V. W. Fazio, M. G. O’Riordain, I. C. Lavery [et al.] // Ann. Surg. – 1999. – Vol. 230. – P. 575–584.

161. Long-term outcome after ileal pouch-anal anastomosis: function and health-related quality of life / I. Berndtsson, E. Lindholm, T. Oresland, L. Börjesson // Dis. Colon Rectum. – 2007. – Vol. 50, N 10. – P. 1545–1552.

162. Long-term outcomes of restorative proctocolectomy for Crohn's disease and indeterminate colitis / P. P. Tekkis, A. G. Heriot, O. Smith [et al.] // Colorectal Dis. – 2005. – Vol. 7, N 3. – P. 218–223.

163. Long-term results of the ileoanal pouch procedure / P. W. Marcello, P. L. Roberts, D. J. Schoetz [et al.] // Arch. Surg. – 1993. – Vol. 128, N 5. – P. 500–503.

164. Low prevalence of anemia ininflammatory bowel disease: a population-based study in Sweden / M. Rejler, J. Tholstrup, B. Andersson-Gäre, A. Spångéus // Scand. J. Gastroenterol. – 2012. – Vol. 47, N 8–9. – P. 937–942.

165. Lundberg, S. M. A Unified Approach to Interpreting Model Predictions : 31st Conference on Neural Information Processing Systems (NIPS 2017, Long Beach, CA, USA) / S. M. Lundberg, S.-I. Lee. – Long Beach, 2017. – 10 p. – URL : https://papers.nips.cc/paper/2017/file/8a20a8621978632d76c43dfd28b67767-Paper.pdf. – Text : electronic.

166. Mary, J. Y. Development and validation of an endoscopic index of the severity for Crohn's disease: a prospective multicentre study. Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires du Tube Digestif (GETAID) / J. Y. Mary, R. Modigliani // Gut. – 1989. – Vol. 30, N 7. – P. 983–989.

167. Mason, M. Do inflammatory bowel disease therapies cause cancer? / M. Mason, C. A. Siegel. – DOI: 10.1097/MIB.0b013e3182807618. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2013. – Vol. 19, N 6. – P. 1306-1321. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23470503/ (date of access: 17.08.2021).

168. McMahon, T. J. Red Blood Cell Deformability, Vasoactive Mediators, and Adhesion / T. J. McMahon. – DOI: 10.3389/fphys.2019.01417. – Text : electronic // Front. Physiol. – 2019. – N 10. – P. 1417. – URL : https://www.researchgate.net/publication/337298275 (date of access: 17.08.2021).

169. Medical and surgical treatment of haemorrhoids and anal fissure in Crohn's disease: a critical appraisal / S. D'Ugo, L. Franceschilli, F. Cadeddu [et al.]. – DOI: 10.1186/1471-230X-13-47. – Text : electronic // BMC Gastroenterol. – 2013. – Vol. 13. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23496835/ (date of access: 18.07.2021).

170. Methotrexate for induction of remission in refractory Crohn' s disease / J. W. McDonald, D. J. Tsoulis, J. K. Macdonald, B. G. Feagan. – DOI: 10.1002/14651858.CD003459.pub3. – Text : electronic // Cochrane Database Syst. Rev. – 2012. – N 12. – P. CD003459. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23235598/ (date of access: 17.08.2021).

171. Michielan, A. Intestinal Permeability in InflammatoryBowelDisease: Pathogenesis, Clinical Evaluation, and Therapy of Leaky Gut / A. Michielan, R. D'Incà. – DOI: 10.1155/2015/628157. – Text : electronic // Mediators Inflamm. – 2015;2015. – URK : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26582965/ (date of access: 17.08.2021).

172. Microconfined flow behavior of red blood cells / G. Tomaiuolo, L. Lanotte, R. D'Apolito [et al.]. – DOI: 10.1016/j.medengphy.2015.05.007. – Text : electronic // Med. Eng. Phys. – 2016. – Vol. 38, N 1. – P. 11–16. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26071649/ (date of access: 12.08.2021).

173. Mitchell, P. J. Indeterminate colitis / P. J. Mitchell, M. Y. Rabau, N. Y. Haboubi. – DOI: 10.1007/s10151-007-0337-y. – Text : electronic // Tech. Coloproctol. – 2007. – Vol. 11, N 2. – P. 91–96. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17510748/ (date of access: 17.08.2021).

174. Modeling Biological Membrane and Red Blood Cells by Coarse- Grained Particle Method / H. Li, H. Chang, J. Yang [et al.]. – DOI: 10.1007/s10483-018-2252-6. – Text : electronic // Math. Mech. – 2017. – Vol. 39, N 1. – URL : https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/1707/1707.00218.pdf (date of access: 16.07.2021).

175. Monteleone, G. Targets for new immunomodulation strategies in inflammatory bowel disease / G. Monteleone, R. Caruso, F. Pallone. – DOI: 10.1016/j.autrev.2013.06.003. – Text : electronic // Autoimmun. Rev. – 2014. –

Vol. 13, N 1. – P. 11–14. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23774108/ (date of access: 18.07.2021).

176. Moss, A. C. How often is a diagnosis of ulcerative colitis changed to Crohn's disease and vice versa? / A. C. Moss, A. S. Cheifetz. – DOI: 10.1002/ibd.20593. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2008, Suppl. 2. – P. S155–S156. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18816774/ (date of access: 18.07.2021).

177. Mucosal healing in inflammatory bowel disease: treatment efficacy and predictive factors / C. Papi, F. Fascì-Spurio, F. Rogai [et al.]. – DOI: 10.1016/j.dld.2013.07.006. – Text : electronic // Dig. Liver Dis. – 2013. – Vol. 45, N 12. – P. 978–985. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24018244/ (date of access: 18.07.2021).

178. Mucosal healing with methotrexate in Crohn's disease: a prospective comparative study with azathioprine and infliximab / D. Laharie, A. Reffet, G. Belleannée [et al.]. – DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04569.x. – Text : electronic // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2011. – Vol. 33, N 6. – P. 714–721. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21235604/ (date of access: 12.08.2021).

179. Neopterin is a novel reliable fecal marker as accurate as calprotectin for predicting endoscopic disease activity in patients with inflammatory bowel diseases / S. Nancey, G. Boschetti, D. Moussata [et al.]. – DOI: 10.1097/MIB.0b013e3182807577. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2013. – Vol. 19, N 5. – P. 1043–1052. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23511035/ (date of access: 18.07.2021).

180. Neurath, M. F. Mucosal healing in inflammatory bowel diseases: a systematic review / M. F. Neurath, S. P. Travis // Gut. – 2012. – Vol. 61, N 11. – P. 1619–1635.

181. New biologic therapeutics for ulcerative colitis and Crohn' s disease / S. Mozaffari, S. Nikfar, A. H. Abdolghaffari, M. Abdollahi. – DOI: 10.1517/14712598.2014.885945. – Text : electronic // Expert. Opin. Biol. Ther. –

2014. – Vol. 14, N 5. – P. 583–600. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24502344/ (date of access: 18.07.2021).

182. New opportunities for colorectal cancer diagnostics using an optical cell detection system based on dielectrophoresis / M. V. Kruchinina, Ya. I. Prudnikova, A. A. Gromov [et al.] // Opt. Spectrosc. – 2019. – Vol. 126, N 5. – P. 568–573.

183. New serological markers for inflammatory bowel disease are associated with earlier age at onset, complicated disease behavior, risk for surgery, and NOD2/CARD15 genotype in a Hungarian IBD cohort / M. Papp, I. Altorjay, N. Dotan [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 103, N 3. – P. 665–681.

184. New serological markers in inflammatory bowel disease are associated with complicated disease behavior / M. Ferrante, L. Henckaerts, M. Joossens [et al.] // Gut. – 2007. – Vol. 56, N 10. – P. 1394–1403.

185. New Trends in Inflammatory Bowel Disease / C. Palmela, J. Torres, M. Cravo. – DOI: 10.1016/j.jpge.2015.03.00. – Text : electronic // GE Port. J. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 22, Is. 3. – P. 103–111. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28868386/ (date of access: 16.07.2021).

186. Nielsen, O. H. New strategies for treatment of inflammatory bowel disease / O. H. Nielsen. – DOI: 10.3389/fmed.2014.00003. – Text : electronic // Front. Med. (Lausanne). – 2014. – Vol. 1, N 3. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25685754/ (date of access: 18.07.2021).

187. Nonfistulizing perianal Crohn’s disease: clinical features, epidemiology, and treatment / G. Bouguen, L. Siproudhis, J. F. Bretagne [et al.]. – DOI: 10.1002/ibd.21261. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2010 – Vol. 16, N 8. – P. 1431–1442. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20310013/ (date of access: 17.08.2021).

188. Noninvasive markers in the assessment of intestinal inflammation in inflammatory bowel diseases: performance of fecal lactoferrin, calprotectin, and PMN-elastase, CRP, and clinical indices / J. Langhorst, S. Elsenbruch, J. Koelzer [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2008. – Vol. 106, N 3. – P. 162–169.

189. Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype / C. H. Seow, J. M. Stempak, W. Xu [et al.]. – DOI: 10.1038/ajg.2009.79. – Text : electronic // Am. J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 104, N 6. – P. 1426–1434. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19491856/ (date of access: 12.08.2021).

190. Odze, R. Diagnostic problems and advances in inflammatory bowel disease / R. Odze. – DOI: 10.1097/01.MP.0000064746.82024.D1. – Text : electronic // Mod. Pathol. – 2003. – Vol. 16, N 4. – P. 347–358. – – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12692200/ (date of access: 18.07.2021).

191. Omega-3 Fatty Acids in Erythrocyte Membranes as Predictors of Lower Cardiovascular Risk in Adults without Previous Cardiovascular Events / G. H. F. Gonçalinho, G. R. Sampaio, R. A. M. Soares-Freitas, N. R. T. Damasceno. – DOI: 10.3390/nu13061919. – Text : electronic // Nutrients. – 2021. – Vol. 13, N 6. – P. 1919. – URL : https://www.mdpi.com/2072-6643/13/6/1919/htm (date of access: 13.08.2021).

192. Operations in unselected patients with ulcerative colitis and indeterminate colitis. A long-term follow-up study / I. Stewénius, G. R. Ekelund, C. H. Florén [et al.] // Eur. J. Surg. – 1996. – Vol. 162, N 2. – P. 131–137.

193. Opportunistic infections due to inflammatory bowel disease therapy / M. Dave, T. Purohit, R. Razonable, E. V. Loftus. – DOI: 10.1097/MIB.0b013e3182a827d2. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2014. – Vol. 20, N 1. – P. 196–212. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24051931/ (date of access: 18.07.2021).

194. Optimising monitoring in the management of Crohn’s disease: a physician’s perspective / P. Papay, A. Ignjatovic, K. Karmiris [et al.] // J. Crohns Colitis. – 2013. – Vol. 7, N 8. – P. 653–669.

195. Outcomes and Strategies to Support a Treat-to-target Approach in Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Review / J.-F. Colombel, G. D’haens, W.-J. Lee [et al.]. – DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjz131. – Text : electronic // J. Crohns Colit. –

2020. – Vol. 14, N 2. – P. 254–266. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31403666/ (date of access: 12.08.2021).

196. p-ANCA and development of pouchitis in ulcerative colitis patients after proctocolectomy and ileoanal pouch anastomosis / M. Vecchi, P. Gionchetti, M. B. Bianchi [et al.] // Lancet. – 1994. – Vol. 344. – P. 886–887

197. Panes, J. Advances in Use of Endoscopy, Radiology, and Biomarkers to Monitor Inflammatory Bowel Diseases / J. Panes, V. Jairath, B. G. Levesque // Gastroenterology. – 2017. – Vol. 152, N 2. – P. 362–373.

198. Patel, D. Management of Anemia in Patients with Inflammatory Bowel Disease (IBD) / D. Patel, C. Trivedi, N. Khan. – DOI: 10.1007/s11938-018-0174-2. – Text : electronic // Curr. Treat. Options Gastroenterol. – 2018. – Vol. 16, N 1. – P. 112–128. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29404920/ (date of access: 18.07.2021).

199. Peculiarities of Erythrocytic Parameters in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis / M. V. Kruchinina, S. A. Kurilovich, A. A. Gromov [et al.]. – DOI: 10.4236/jasmi.2016.61002. – Text : electronic // J. Anal. Sci. Meth. Instrum. – 2016. – Vol. 6, N 1. – P. 6–14. – URL : http://dx.doi.org/10.4236/jasmi.2016.61002 (date of access: 12.08.2021).

200. Perianal Crohn’s disease findings other than fistulas in a population-based cohort / L. Peyrin-Biroulet, E. V. Loftus, W. J. Tremaine [et al.]. – DOI: 10.1002/ibd.21674. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2012. – Vol. 18, N 1. – P. 43–48. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21351216/ (date of access: 17.08.2021).

201. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with Crohn’s disease define a clinical subgroup / E. A. Vasiliauskas, S. E. Plevy, C J. Landers [et al.] // Gastroenterology. – 1996. – Vol. 110, N 6. – P. 1810–1819.

202. Persistent or Recurrent Anemia Is Associated With Severe and Disabling Inflammatory Bowel Disease / I. E. Koutroubakis, C. Ramos-Rivers, M. Regueiro [et al.] // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2015. – Vol. 13, N 10. – P. 1760–1766.

203. Possible Differential Diagnosis of the Degrees of Rheological Disturbances in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus by Dielectrophoresis of Erythrocytes / M. V. Kruchinina, A. A. Gromov, V. M. Generalov, V. N. Kruchinin. – DOI: 10.3390/jpm100300. – Text : electronic // J. Pers. Med. – 2020. – Vol. 10, N 3. – P. 60. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32635670/ (date of access: 12.08.2021).

204. Practical guidance for the management of iron deficiency in patients with inflammatory bowel disease / D. Niepel, T. Klag, N. P. Malek, J. Wehkamp. – DOI: 10.1177/1756284818769074. – Text : electronic // Ther. Adv. Gastroenterol. – 2018. – N 11. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29760784/ (date of access: 18.07.2021).

205. Predicting a change in diagnosis from ulcerative colitis to Crohn's disease: a nested, case-control study / G. Y. Melmed, R. Elashoff, G. C. Chen [et al.]. // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2007. – Vol. 5, N 5. – P. 602–608.

206. Predicting the outcome in severe ulcerative colitis / S. P. L. Travis, J. M. Farrant, C. Ricketts [et al.] // Gut. – 1996. – Vol. 38, N 6. – P. 905–910.

207. Predicting the outcome of severe ulcerative colitis: development of a novel risk score to aid early selection of patients for second-line medical therapy or surgery / G. T. Ho, C. Mowat, C. J. Goddard [et al.] // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2004. – Vol. 19, N 10. – P. 1079–1087.

208. Predictors of Crohn's disease / L. Beaugerie, P. Seksik, I. Nion-Larmurier [et al.] // Gastroenterology. – 2006. – Vol. 130. – P. 650–656.

209. Prevalence and pathogenesis of anemia in inflammatory bowel disease. Influence of anti-tumor necrosis factor-alpha treatment / G. Bergamaschi, A. Sabatino Di, R. Albertini. – DOI: 10.3324/haematol.2009.009985. – Text : electronic // Haematologica. – 2010. – Vol. 95, N 2. – P. 199–205. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19815838/ (date of access: 16.07.2021).

210. Prevalence of anemia in inflamma-tory bowel diseases in European countries: a systematic review and individualpatient data meta-analysis / N. Filmann, J. Rey, S. Schneeweiss [et al.] // Inflamm. Bowel Dis. – 2014. – Vol. 20, N 5. – P. 936–945.

211. Prognostic value of red cell distribution width (RDW) in colorectal cancer. Results from a single-center cohort on 591 patients / C. Pedrazzani, M. Tripepi, G. Turri [et al.]. – DOI: 10.1038/s41598-020-57721-4. – Text : electronic // Sci. Rep. – 2020. – Vol. 10, N 1. – P. 1072. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31974409/ (date of access: 18.07.2021).

212. Quantitative measurement and visual assessment of ileal Crohn's disease activity by computed tomography enterography: correlation with endoscopic severity and C-reactive protein / J. F. Colombel, C. A. Solem, W. J. Sandborn [et al.] // Gut. – 2006. – Vol. 55, N 11. – P. 1561–1567.

213. Racial variation in the relationshipof anemia with mortality and mobility disability among older adults / K. V. Patel, T. B. Harris, M. Faulhaber [et al.] // Blood. – 2007. – Vol. 109, N 11. – P. 4663–4670.

214. Racine, M. L. Reduced deformability contributes to impaired deoxygenation-induced ATP release from red blood cells of older adult humans / M. L. Racine, F. A. Dinenno. – DOI: 10.1113/JP278338. – Text : electronic // J. Physiol. – 2019. – Vol. 597, N 17. – P. 4503–4519. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31310005/ (date of access: 16.08.2021).

215. Red blood cell fatty acid levels improve GRACE score prediction of 2-yr mortality in patients with myocardial infarction / W. S. Harris, K. F. Kennedy, J. H. Jr. O'Keefe, J. A. Spertus. – DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.09.076. – Text : electronic // Int. J. Cardiol. – 2013. – Vol. 168, N 1. – P. 168. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23044429/ (date of access: 16.07.2021).

216. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients / G. Lippi, G. Targher, M. Montagnana [et al.] // Arch. Pathol. Lab. Med. – 2009. – Vol. 133. – P. 628–632.

217. Relationships between disease activity and serum and fecal biomarkers in patients with Crohn's disease / J. Jones, E. V. Loftus, R. Panaccione [et al.]. – DOI: 10.1016/j.cgh.2008.06.010. – Text : electronic // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2008. –

Vol. 6, N 11. – P. 1218–1224. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18799360/ (date of access: 17.08.2021).

218. Relevance of monitoring transmural disease activity in patients with Crohn's disease: current status and future perspectives / R. Wilkens, K. L. Novak, C. Maaser [et al.]. – DOI: 10.1177/17562848. – Text : electronic // Ther. Adv. Gastroenterol. – 2021. – Vol. 14. – P. 1–18. – URL : https://www.researchgate.net/publication/350947827 (date of access: 17.08.2021).

219. Results from the 2nd Scientific Workshop of the ECCO. I: Impact of mucosal healing on the course of inflammatory bowel disease / L. Peyrin-Biroulet, M. Ferrante, F. Magro [et al.]. – DOI: 10.1016/j.crohns.2011.06.009. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2011. – Vol. 5, N 5. – P. 477–483. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21939925/ (date of access: 18.07.2021).

220. Results of the 2nd part Scientific Workshop of the ECCO. II: Measures and markers of prediction to achieve, detect, and monitor intestinal healing in inflammatory bowel disease / M. Daperno, F. Castiglione, L. Ridder de [et al.]. – DOI: 10.1016/j.crohns.2011.07.003. – Text : electronic // J. Crohns. Colitis. – 2011. – Vol. 5, N 5. – P. 484–498. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21939926/ (date of access: 18.07.2021).

221. Results of the 2nd scientific workshop of the ECCO (IV): therapeutic strategies to enhance intestinal healing in inflammatory bowel disease / A. Armuzzi, G. van Assche, W. Reinisch [et al.]. – DOI: 10.1016/j.crohns.2011.12.016. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2012. – Vol. 6, N 4. – P. 492–502. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22406343/ (date of access: 17.08.2021).

222. Results of the pelvic-pouch procedure in patients with Crohn’s disease / A. A. Deutsch, R. S. McLeod, J. Cullen, Z. Cohen // Dis. Colon Rectum. – 1991. – Vol. 34, N 6. – P. 475–477.

223. Review article: anti-adhesion therapies for inflammatory bowel disease / T. Lobatón, S. Vermeire, G. van Assche, P. Rutgeerts. – DOI: 10.1111/apt.12639. –

Text : electronic // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2014. – Vol. 39, N 6. – P. 579–594. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24479980/ (date of access: 18.07.2021).

224. Rodgers, A. D. CRP correlates with clinical score in ulcerative colitis but not in Crohn's disease / A. D. Rodgers, A. G. Cummins // Dig. Dis. Sci. – 2007. – Vol. 52, N 9. – P. 2063–2068

225. Rogler, G. Anemia in inflammatory bowel disease: an under-estimated problem? / G. Rogler, S. Vavricka. – DOI: 10.3389/fmed.2014.00058. – Text : electronic // Front. Med. (Lausanne). – 2015. – N 1. – P. 58. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25646159/ (date of access: 17.08.2021).

226. Role of endoscopy in inflammatory bowel disease / S. Bharadwaj, N. Narula, P. Tandon, M. Yaghoobi. – DOI : 10.1093/gastro/goy006. – Text : electronic // Gastroenterol. Rep. – 2018. – Vol. 6, N 2. – P. 75–82. – URL : https://www.researchgate.net/publication/325279770 (date of access: 08.08.2021).

227. Røseth, A. G. Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease / A. G. Røseth, E. Aadland, K. Grzyb // Scand. J. Gastroenterol. – 2004. – Vol. 39, N 10. – P. 1017–1020.

228. Sairenji, T. An Update on Inflammatory BowelDisease / T. Sairenji, K. L. Collins, D. V. Evans. – DOI: 10.1016/j.pop.2017.07.010. – Text : electronic // Prim. Care. – 2017. – Vol. 44, N 4. – P. 673–692. –URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29132528/ (date of access: 16.07.2021).

229. Schroeder, K. W. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study / K. W. Schroeder, W. J. Tremaine, D. M. Ilstrup // N. Engl. J. Med. – 1987. – Vol. 317, N 26. – P. 1625–1629.

230. Scribano, M. L. Antibiotics and inflammatory bowel diseases / M. L. Scribano, C. Prantera. – DOI: 10.1159/000354704. – Text : electronic // Dig. Dis. – 2013. – Vol. 31, N 3–4. – P. 379–384. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24246992/ (date of access: 17.08.2021).

231. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 2: current management / A. Dignass, J. O. Lindsay, A. Sturm [et al.]. – DOI: 10.1016/j.crohns.2012.09.002. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2012. – Vol. 6, N 10. – P. 991–1030. – https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23040451/ (date of access: 12.08.2021).

232. Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): determining therapeutic goals for treat-to- target / L. Peyrin-Biroulet, W. Sandborn, B. E. Sands [et al.] // Am. J. Gastroenterol. – 2015. – Vol. 110, N 9. – P. 1324–1338.

233. Serologic testing with ANCA, ASCA, and anti-OmpC in children and young adults with Crohn's disease and ulcerative colitis: diagnostic value and correlation with disease phenotype / A. Zholudev, D. Zurakowski, W. Young [et al.] // Am. J. Gastroentero. – 2004. – Vol. 99, N 11. – P. 2235–2241.

234. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review / L. Prideaux, P. Cruz De, S. C. Ng, M. A. Kamm. – DOI: 10.1002/ibd.21903. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2012. – Vol. 18, N 7. – 1340–1355. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22069240/ (date of access: 16.08.2021).

235. Serological cytokine signature in paediatric patients with inflammatory bowel disease impacts diagnosis / M. Tatsuki, R. Hatori, T. Nakazawa [et al.]. – DOI : 10.1038/s41598-020-71503-y. – Text : electronic // Sci. Rep. – 2020. – Vol. 10, N 1. – P. 14638. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32884009/ (date of access: 17.08.2021).

236. Serological markers predict inflammatory bowel disease years before the diagnosis / F. D. van Schaik, B. Oldenburg, A. R. Hart [et al.]. – DOI: 10.1136/ gutjnl-2012-302717. – Text : electronic // Gut. – 2013. – Vol. 62, N 5. – P. 683–688. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22842615/ (date of access: 17.08.2021).

237. Serum antibodies to microbial antigens for Crohn's disease progression: a meta-analysis / Y. Xiong, G. Z. Wang, J. Q. Zhou [et al.] // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2014. – Vol. 26, N 7. – P. 733–742.

238. Serum cytokine, chemokine, and growth factor profiles and their modulation in inflammatory bowel disease / M. L. Martinez-Fierro Margarita L., I. Garza-Veloz, M. R. Rocha-Pizaña [et al.]. – DOI: 10.1097/MD.0000000000017208. – Text : electronic // Med. (Baltimore). – 2019. – Vol. 98, N 38. – P. e17208. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31567972/ (date of access: 17.08.2021).

239. Serum Fatty Acids Are Correlated with Inflammatory Cytokines in Ulcerative Colitis / D. M. Wiese, S. N. Horst, C. T. Brown. – DOI: 10.1371/journal.pone.0156387. – Text : electronic // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, N 5. – P. e0156387. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27227540/ (date of access: 17.08.2021).

240. Sex Differences in Omega-3 and -6 Fatty Acids and Health Status Among Young Adults With Acute Myocardial Infarction: Results From the VIRGO Study / Y. Lu, Q. Ding, X. Xu [et al.]. – DOI: 10.1161/JAHA.117.008189. – Text : electronic // J. Am. Heart Assoc. – 2018. – Vol. 7, N 11. – P. e008189. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29848494/ (date of access: 18.07.2021).

241. Seyedian, S. S. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease / S. S. Seyedian, F. Nokhostin, M. D. Malamir. – DOI : 10.25122/jml-2018-0075. – Text : electronic // J. Med. Life. – 2019. – Vol. 12, N 2. – P. 113–122. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31406511/ (date of access: 08.08.2021).

242. Shen, B. Crohn’s disease of the ileal pouch: reality, diagnosis, and management / B. Shen. – DOI : 10.1002/ibd.20661. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2009. – Vol. 15, N 2. – P. 284–294. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18816633/ (date of access: 08.08.2021).

243. Shortcomings of the inflammatory bowel disease Serology 7 panel / S. Benor, G. H. Russell, M. Silver [et al.]. – DOI: 10.1542/peds.2009-1936. – Text : electronic // Pediatrics. – 2010. – Vol. 125, N 6. – P. 1230-1236. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20439597/

244. Sofaer, H. R. The area under the precision-recall curve as a performance metric for rare binary events / H. R. Sofaer, J. A. Hoeting, C. S. Jarnevich // Intelligent Systems Design and Applications. – 2019. – Vol. 941. – P. 447–457.

245. Squeezing for Life – Properties of Red Blood Cell Deformability / R. Huisjes, A. Bogdanova, W. W. van Solinge [et al.]. – DOI: 10.3389/fphys.2018.00656. – Text : electronic // Front. Physiol. – 2018. – Vol. 9. – P. 656. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29910743/ (date of access: 16.08.2021).

246. State of the iron: how to diagnose andefficiently treat iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease / W. Reinisch, M. Staun, S. Bhandari, M. Muñoz // J. Crohns Colitis. – 2013. – Vol. 7, N 6. – P. 429–440.

247. Surgery-induced remission of extrain-testinal manifestations of inflammatory bowel diseases / A. Rispo, D. Musto, M. L. Tramontano [et al.] // J. Crohn's Colitis. – 2013. – Vol. 7, N 10. – P. e504–e505.

248. Surrogate markers of mucosal healing in inflammatory bowel disease: A systematic review / M. State, L. Negreanu, T. Voiosu [et al.]. – DOI : 10.3748/wjg.v27.i16.1828. – Text : electronic // World J. Gastroenterol. – 2021. – Vol. 27, N 16. – P. 1828–1840. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33967560/ (date of access: 17.08.2021).

249. T-cell non-Hodgkin's lymphomas reported to the FDA AERS with tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) inhibitors: results of the REFURBISH study / P. Deepak, H. Sifuentes, M. Sherid [et al.]. – DOI: 10.1038/ajg.2012.334. – Text : electronic // Am. J. Gastroenterol. – 2013. – Vol. 108, N 1. – P. 99–105. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23032984/ (date of access: 18.07.2021).

250. Technology insight: calprotectin, lactoferrin and nitric oxide as novel markers of inflammatory bowel disease / J. O. Lundberg, P. M. Hellstrom, M. K. Fagerhol [et al.] // Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol. – 2005. – N 2. – P. 96–102.

251. The burden of anaemia in patients with inflammatory bowel diseases / A. Testa, A. Rispo, M. Romano [et al.]. – DOI: 10.1016/j.dld.2015.10.012. – Text : electronic // Dig. Liver Dis. – 2016. – Vol. 48, N 3. – P. 267–270. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26698411/ (date of access: 18.07.2021).

252. The correlation between quality of life and functional outcome in ulcerative colitis patients after proctocolectomy ileal pouch anal anastomosis / E. Carmon, A. Keidar, A. Ravid [et al.] // Colorectal Dis. – 2003. – Vol. 5, N 3. – P. 228–232.

253. The fate of the ileal pouch in patients developing Crohn's disease / J. M. Braveman, D. J. Schoetz, P. W. Marcello [et al.] // Dis. Colon Rectum. – 2004. – Vol. 47, N 10. – P. 1613–1619.

254. The fatty acid profile of the erythrocyte membrane in initial-onset inflammatory bowel disease patients / K. Uchiyama, S. Odahara, M. Nakamura [et al.]. – DOI: 10.1007/s10620-012-2508-6. – Text : electronic // Dig. Dis. Sci. – 2013. – Vol. 58, N 5. – P. 1235–1243. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23306839/ (date of access: 17.08.2021).

255. The Molecular Structure of Human Red Blood Cell Membranes from Highly Oriented, Solid Supported Multi-Lamellar Membranes / S. Himbert, R. J. Alsop, M. Rose [et al.]. – DOI: 10.1038/srep39661. – Text : electronic // Sci. Rep. –2017. – N 7. – P. 39661. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28045119/ (date of access: 16.08.2021).

256. The Montreal classification of inflammatory bowel disease: controversies, consensus and implications / J. Satsangi, M. S. Silverberg, S. Vermeire, J. F. Colombel // Gut. – 2006. – Vol. 55, N 6. – P. 749–753.

257. The possibility of hemorheological parameters as precursors of recurrent strokes / M. V. Kruchinina, A. A. Gromov, V. M. Generalov [et al.] // Proceedings of the 5th KES International Conference on Innovation in Medicine and Healthcare (2017 June 21–23, Algarve, Portugal). – Algarve, 2017. – P. 101–109.

258. The relationship between red blood cell deformability metrics and perfusion of an artificial microvascular network / J. M. Sosa, N. D. Nielsen,

S. M. Vignes [et al.]. – DOI : 10.3233/CH-131719. – Text : electronic // Clin. Hemorheol. Microcirc. – 2014. – Vol. 57, N 3. – P. 275–289. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23603326/ (date of access: 17.08.2021).

259. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Current management / A. Dignass, J. O. Lindsay, A. Sturm [et al.]. – DOI: 10.1016/ j.crohns.2009.12.002. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2010. – Vol. 4, N 1. – P. 28–62. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21122489/ (date of access: 12.08.2021).

260. The second European evidence-based Consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: Definitions and diagnosis / A. Dignass, G. van Assche, J. O. Lindsay [et al.]. – DOI: 10.1016/ j.crohns.2009.12.003. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2010. – Vol. 4, N 1. – P. 7–27. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21122489/ (date of access: 17.08.2021).

261. The use of methotrexate for treatment of inflammatory bowel disease in clinical practice / S. Saibeni, S. Bollani, A. Losco [et al.]. – DOI: 10.1016/j.dld.2011.09.015. – Text : electronic // Dig. Liver Dis. – 2012. – Vol. 44, N 2. – P. 123–127. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22051323/ (date of access: 17.08.2021).

262. The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study / S. Joossens, W. Reinisch, S. Vermeire [et al.] // Gastroenterology. – 2002. – Vol. 122, N 5. – P. 1242–1247.

263. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 2: Current Management / M. Harbord, R. Eliakim, D. Bettenworth [et al.] ; European Crohn's and Colitis Organisation (ECCO). – DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjx009. – Text : electronic // J. Crohns Colitis. – 2017. – Vol. 11, N 7. – P. 769–784. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28513805/ (date of access: 13.08.2021).

264. Thirlby, R. C. The long-term benefit of surgery on health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease / R. C. Thirlby, M. A. Sobrino, J. B. Randall // Arch. Surg. – 2001. – Vol. 136, N 5. – P. 521–527.

265. Thrombosis in inflammatory bowel diseases: what's the link? / M. Giannotta, G. Tapete, G. Emmi [et al.]. – DOI: 10.1186/s12959-015-0044-2. – Text : electronic // Thromb. J. – 2015. – N 14. – P. 14. – URL : https://doi.org/10.1186/s12959-015-0044-2 (date of access: 13.08.2021).

266. Tontini, G. E. Endoscopic scoring systems for inflammatory bowel disease: pros and cons / G. E. Tontini, R. Bisschops, H. Neumann. – DOI: 10.1586/17474124.2014.899899. – Text : electronic // Expert Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2014. – Vol. 8, N 5. – P. 543–554. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24650249/ (date of access: 12.08.2021).

267. Treat to Target: A Proposed New Paradigm for the Management of Crohn's Disease / G. Bouguen, B. G. Levesque, B. G. Feagan [et al.]. – DOI: 10.1016/j.cgh.2013.09.006. – Text : electronic // Clin. Gastroenterol. Hepatol. – 2015. – Vol. 13, N 6. – P. 1042–1050. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24036054/ (date of access: 17.08.2021).

268. Truelove, S. C. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial / S. C. Truelove, L. J. Witts // Br. Med. J. – 1955. – N 2. – P. 1041–1048.

269. Van de Logt, F. S100A12: a noninvasive marker of inflammation in inflammatory bowel disease / F. Van de Logt, A. S. Day. – DOI: 10.1111/1751-2980.12012. – Text : electronic // J. Dig. Dis. – 2013. – Vol. 14, N 2. – P. 62–67. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23146044/ (date of access: 17.08.2021).

270. Venous thromboembolic events in inflammatory bowel diseases: A review of current evidence and guidance on risk in the post-hospitalization setting / S. K. Murthy, A. B. R. McCurdy, M. Carrier, J. D. McCurdy. – DOI: 10.1016/j.thromres.2020.06.005. – Text : electronic // Thromb. Res. – 2020. – Vol. 194. – P. 26–32. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32563061/ (date of access: 18.07.2021).

271. Vermeire, S. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? / S. Vermeire, G. van Assche, P. Rutgeerts // Gut. – 2006. – Vol. 55, N 3. – P. 426–431.

272. Vermeire, S. Recent advances: Personalised use of current Crohn's disease therapeutic options / S. Vermeire, M. Ferrante, P. Rutgeerts. – DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303958. – Text : electronic // Gut. – 2013. – Vol. 62, N 10. – P. 1511–1515. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24037876/ (date of access: 17.08.2021).

273. Wagner, C. Aggregation of red blood cells: From rouleaux to clot formation / C. Wagner, P. Steffen, S. Svetina. – DOI: 10.1016/j.crhy.2013.04.004. – Text : electronic // Comptes Rendus Physique. – 2013. – Vol. 14, Is. 6. – P. 459–469. – URL : https://arxiv.org/pdf/1310.1483.pdf (date of access: 12.08.2021).

274. Weisel, J. W. Red blood cells: the forgotten player in hemostasis and thrombosis / J. W. Weisel, R. I. Litvinov. – DOI: 10.1111/jth.14360. – Text : electronic // J. Thromb. Haemost. – 2019. – Vol. 17, N 2. – P. 271–282. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30618125/ (date of access: 17.08.2021).

275. Werlin, S. L. Severe colitis in children and adolescents: diagnosis. Course and treatment / S. L. Werlin, R. J. Grand // Gastroenterology. – 1977. – Vol. 73, N 4 (pt. 1). – P. 828–832.

276. Willot, S. Methotrexate in the treatment of inflammatory bowel disease: an 8-year retrospective study in a Canadian pediatric IBD center / S. Willot, A. Noble, C. Deslandres – DOI: 10.1002/ibd.21653. – Text : electronic // Inflamm. Bowel Dis. – 2011. – Vol. 17, N 12. – P. 2521–2526. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21337668/ (date of access: 17.08.2021).

277. Wilson, A. Prevalence and outcomes of anemia in inflamma-tory bowel disease: a systematic review of the literature / A. Wilson, E. Reyes, J. Ofman // Am. J. Med. – 2004. – Vol. 116, suppl. 7A. – P. 44S–49S.

278. Wolkomir, A. F. Surgery for symptomatic hemorrhoids and anal fissures in Crohn's disease / A. F. Wolkomir, M. A. Luchtefeld // Dis. Colon Rectum. – 1993. – Vol. 36, N 6. – P. 545–547.

279. Yu, C. S. Ileal pouch-anal anastomosis in patients with indeterminate colitis: long-term results / C. S. Yu, J. H. Pemberton, D. Larson // Dis. Colon Rectum. – 2000. – Vol. 43, N 11. – P. 1487–1496.

280. Yu, Y. R. Clinical presentation of Crohn's, ulcerative colitis, and indeterminate colitis: Symptoms, extraintestinal manifestations, and disease phenotypes / Y. R. Yu, J. R. Rodriguez. – DOI: 10.1053/j.sempedsurg.2017.10.003. – Text : electronic // Semin. Pediatr. Surg. – 2017. – Vol. 26, N 6. – P. 349–355. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29126502/ (date of access: 17.08.2021).

281. Zezos, P. Inflammatory bowel disease and thromboembolism / P. Zezos, G. Kouklakis, F. Saibil. – DOI: 10.3748/wjg.v20.i38.13863. – Text : electronic // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, N 38. – P. 13863–13878. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25320522/ (date of access: 17.08.2021).

282. Zhang, Y. Z. Inflammatory bowel disease: pathogenesis / Y. Z. Zhang, Y. Y. Li. – DOI: 10.3748/wjg.v20.i1.91. – Text : electronic // World J. Gastroenterol. – 2014. – Vol. 20, N 1. – P. 91–99. – URL : https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24415861/ (date of access: 17.08.2021).

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Подходы к дифференциальной диагностике при воспалительных заболеваниях кишечника – колите……..... С. 21
2. Рисунок 2 – Группы обследованных……..... С. 45
3. Рисунок 3 – Уровни электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными нозологическими формами ВЗК в стадии обострения……. С. 95
4. Рисунок 4 – Корреляции активности ВЗК с уровнями электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов…… С. 97
5. Рисунок 5 – Уровни электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с разными стадиями ВЗК……. С. 112
6. Рисунок 6 – ROC-анализ при использовании только уровней фекального кальпротектина (кривая 1) и только электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов (кривая 2) в различении активного ВЗК от стадии ремиссии заболевания…….. С. 119
7. Рисунок 7 – Нормализация уровней электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике…….. С. 131
8. Рисунок 8 – Тепловая карта (Heatmap) визуализации электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике ……. С. 132
9. Рисунок 9 – t-test (парный и непарный) для выявления предикторов обострения среди электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровни некоторых из них в форме размаха диаграмм у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике……. С. 133
10. Рисунок 10 – Применение метода Volcano plot (парная статистика) при анализе электрических и вязкоупругих показателей

эритроцитов, претендующих на роль маркеров предикции обострения, и уровни некоторых из них в форме размаха диаграмм у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике……..... С. 134

11. Рисунок 11 – Volcano plot (непарная статистика) электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов, претендующих на роль маркеров предикции обострения, и уровни некоторых из них (M ± SD) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике…….. С. 136
12. Рисунок 12 – Метод orthoPLSDA в различении электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (парная статистика) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике…… С. 138
13. Рисунок 13 – Тепловая карта (Heatmap) корреляций электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (парная статистика) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике…… С. 1138
14. Рисунок 14 – Корреляции доли деформированных клеток с электрическими и вязкоупругими параметрами эритроцитов……. С. 139
15. Рисунок 15 – ROC-кривые для доли деформированных клеток и обобщенного показателя вязкости, уровни значений показателей при обострении и ремиссии ……. С. 140
16. Рисунок 16 – Кластерный анализ (K-means clustering) электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов – предикторов обострения у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике…….. С. 141
17. Рисунок 17 – Кластерный анализ (K-means clustering) электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов – предикторов обострения у пациентов с ВЗК в стадии ремиссии (n = 36)……. С. 142
18. Таблица 1 – Клиническая характеристика группы пациентов с

язвенным колитом…… С. 59
19. Таблица 2 – Клиническая характеристика группы пациентов с болезнью Крона…… С. 64
20. Таблица 3 – Клиническая характеристика группы пациентов с неклассифицированным колитом……... С. 69
21. Таблица 4 – Клиническая характеристика пациентов с ВЗК и обследуемых группы сравнения (M ± SD)……. С. 71
22. Таблица 5 – Показатели общего анализа крови, показатели обмена железа у пациентов с ВЗК и лиц группы контроля (M ± SD), (Me [25 %; 75 %])……..... С. 74
23. Таблица 6 – Биохимические показатели у пациентов с ВЗК и лиц группы контроля (M ± SD), (Me [25 %; 75 %])……. С. 79
24. Таблица 7 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с ВЗК и обследуемых группы контроля (M ± SD), (Me [25 %; 75 %])……. С. 83
25. Таблица 8 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с ВЗК в стадии обострения до начала терапии или на фоне терапии препаратами 5-АСК и обследуемых группы контроля (M ± SD) (Me [25 %; 75 %])……. С. 90
26. Таблица 9 – Анемии различного генеза у пациентов с ВЗК в стадии обострения (до начала терапии или на фоне терапии препаратами 5-АСК)……. С. 96
27. Таблица 10 – Корреляции вязкоупругих и электрических характеристик эритроцитов у пациентов с ВЗК с показателями красной крови, показателями обмена железа, маркерами воспаления…… С. 100
28. Таблица 11 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с активными и неактивными ВЗК и лиц группы контроля (M ± SD), (Me [25 %;

75 %])……. С. 109

29. Таблица 12 – Дифференцирующие значения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, фекального кальпротектина для пациентов с ВЗК с разными стадиями заболевания и лиц группы контроля…… С. 114

30. Таблица 13 – Результаты оценки обобщенного анализа данных исследования вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов в сочетании с уровнем фекального кальпротектина по сравнению с данными биохимических, инструментальных обследований…….. С. 118

31. Таблица 14 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с ВЗК в динамике наблюдения (M± SD), (Me [25 %; 75 %])…….. С. 128

32. Таблица 15 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, исследованные методом Volcano plot (парная статистика), у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике, претендующих на роль предикторов обострения……. С. 135

33. Таблица 16 – Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, исследованные методом Volcano plot (непарная статистика), у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике, претендующих на роль предикторов обострения……. С. 136

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(справочное)

Исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле

Исследование электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов методом диэлектрофореза эритроцитов в неоднородном переменном электрическом поле (ДЭФ в НПЭП) выполнено на базе биохимической лаборатории (группа гемостаза) НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ИЦиГ СО РАН (руководитель группы ст. науч. сотр., канд. мед. наук Громов А. А.).

Суть метода состоит в том, что индивидуальное взаимодействие каждой отдельной клетки суспензии с НПЭП сопровождается поляризацией ее положительных и отрицательных электрических зарядов. В результате поляризации в клеточном объеме возникает индуцированный дипольный момент. Поляризованная клетка, находящаяся в непроводящей суспензии, под действием силы НПЭП приходит в-движение и деформируется.

Теоретические основы метода

Мембрана клетки образована тонким слоем полярных липидов и белков. Молекулы липидов в мембране расположены в два ряда и образуют сплошной слой. Белки располагаются в липидном слое. Молекулы белков и липидный слой подвижны и несут на себе электрические заряды. Удельная электрическая емкость мембраны составляет ~ 1 мкФ/см^2. Электрическое сопротивление мембраны весьма велико и составляет ($10^{9–}10^{12}$) Ом. Исходя из приведенных электрических параметров мембраны, ее эквивалентная электрическая схема может быть представлена в виде параллельно соединенных активного сопротивления R_M и емкости C_M. Мембрана образует первый электрический контур клетки.

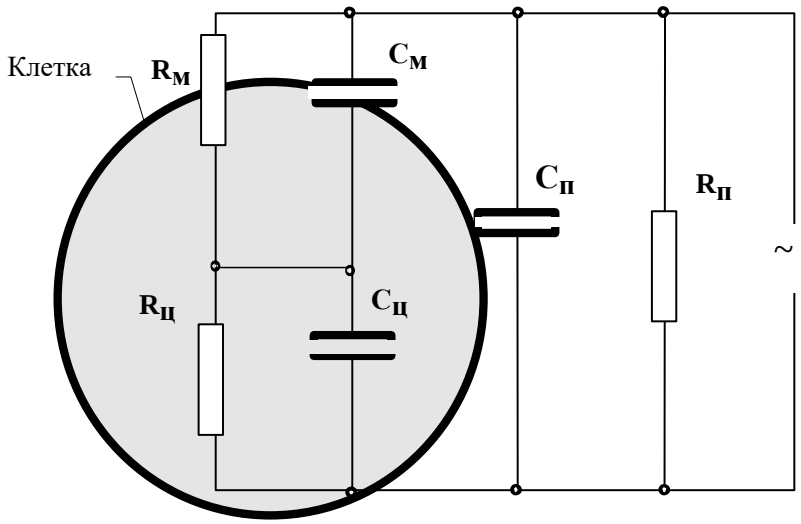
Цитоплазма клетки – коллоидный раствор белков, углеводов, аминокислот, ферментов, минеральных и других веществ. Наличие в цитоплазме значительного

количества ионов создает в ней проводящую среду. Проводимость цитоплазмы оценивают ($1/R_Ц = 18 \cdot 10^{-5}$) Сим/м. Клеточные органеллы обладают электрической емкостью и несут на своей поверхности неоднородно распределенные электрические заряды. Отдельные электрические емкости перечисленных ингредиентов образуют общую емкость цитоплазмы $C_Ц$.

Известно, что клетка на внешней поверхности мембраны имеет одноименный электрический заряд. Величина указанного заряда определяется рядом факторов, среди которых можно выделить: мембранный потенциал; количество адсорбированного белка на поверхности клетки; значение pH окружающей среды и т. д. Указанные электрические заряды создают активное поверхностное сопротивление $R_П$ и емкость $C_П$ клетки. Электрическая схема поверхности клетки может быть представлена также в виде параллельного соединения активного сопротивления поверхности $R_П$ и емкости $C_П$. Поверхность клетки образует третий электрический контур.

В переменном электрическом поле через клетку и по ее поверхности текут два контурных тока. Первый – последовательно проходит через электрический контур мембраны и цитоплазмы, поэтому ($I_М = I_Ц$). Второй – течет по клеточной поверхности. Общий ток клетки является суммой указанных токов ($I_К = I_М + I_П$).

На основе приведенных рассуждений электрическая эквивалентная схема клетки может быть представлена в виде, изображенном на рисунке 1.



Примечание: $R_М$, $C_М$ – активное сопротивление и емкость мембраны клетки; $R_Ц$,$C_Ц$ – активное сопротивление и емкость цитоплазмы клетки; $R_П$, $C_П$ – активное сопротивление и емкость поверхности клетки.

Рисунок А 1 – Электрическая эквивалентная схема клетки в переменном электрическом поле

Клетка, как любая механическая система, в ответ на возмущение ее состояния равновесия со стороны импульсного НПЭП, совершает вынужденные колебания и испытывает при этом деформацию.

В НПЭП наблюдаются следующие эффекты:

а) направленное перемещение и осаждение клеток на электродах;

б) ориентация клеток вдоль силовых линий электрического поля;

в) образование кооперативных цепочек из клеток;

г) деформация формы клеток;

д) вращение одиночных клеток;

е) кооперативное вращение клеток друг относительно друга.

Теоретически и практически показано, что в случае положительной поляризации клетка поступательно движется в область с более высокой напряженностью электрического поля (положительный диэлектрофорез), в случае

отрицательной поляризации – она выталкивается в область с более низкой напряженностью электрического поля (отрицательный диэлектрофорез). Границей между указанными областями является равновесная частота ϖ_p, на которой клетка становится неподвижной (вращается вокруг собственной оси). Ее величина существенно зависит от электропроводности раствора среды.

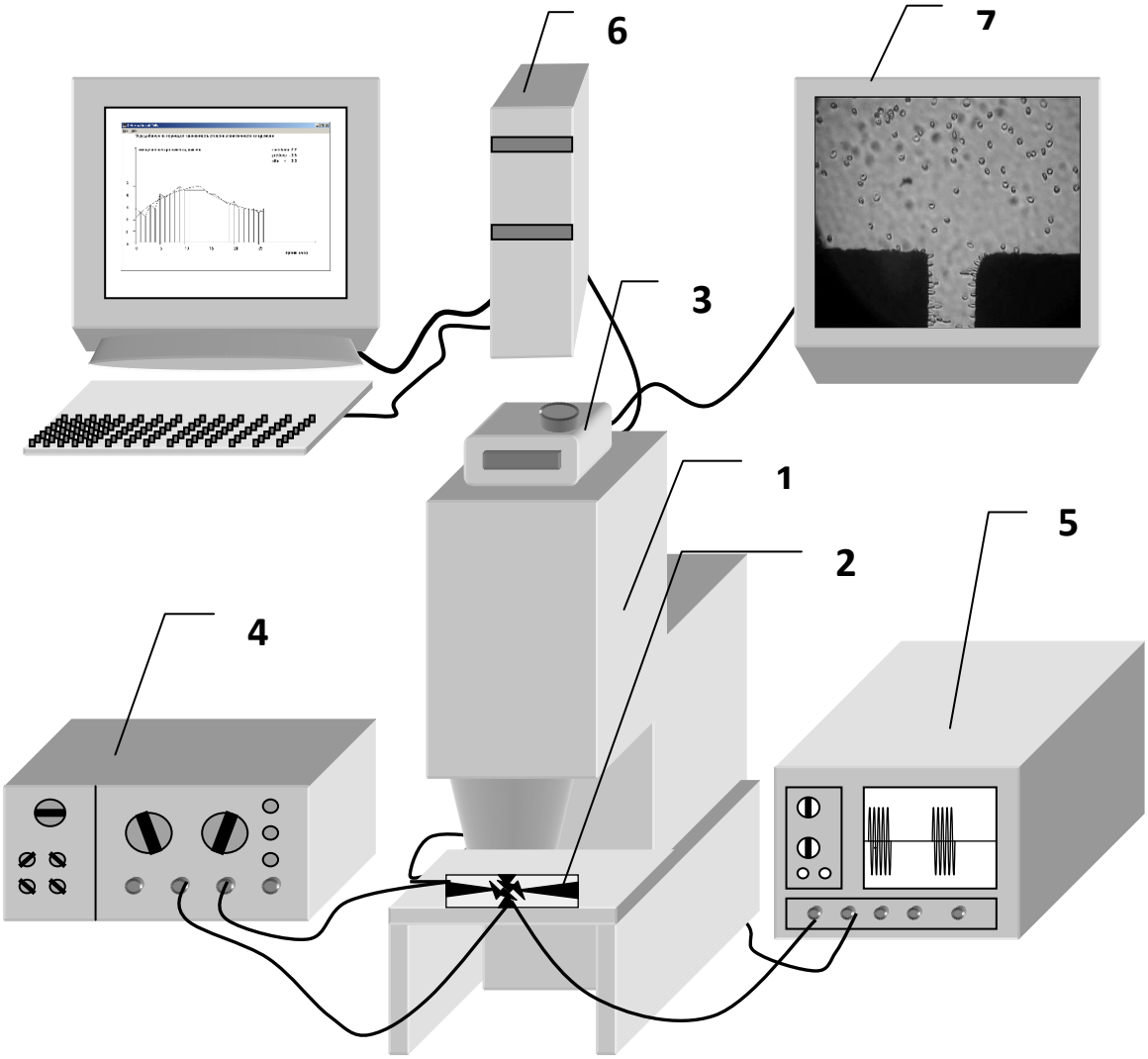
В растворах с низкой проводимостью G – 10^{-3} См/м все перечисленные эффекты зависят от частоты электрического поля. Можно выделить три характерных частотных диапазона: низкочастотный, промежуточный и высокочастотный. В низкочастотном диапазоне (50–150 кГц) клетки поступательно движутся в область с наименьшей напряженностью электрического поля. В промежуточном диапазоне (300–600 кГц) клетки испытывают вращение вокруг собственной оси. В высокочастотном диапазоне (1000–1500 кГц) они поступательно движутся в сторону ближайшего электрода и оседают на его гранях.

Частота, на которой напряжение на мембране равно напряжению на цитоплазме клетки, является равновесной ω_p. Ее можно определить из условия ($Z_Ц = Z_М$). Нарушение целостности мембраны приведет к смещению равновесной частоты в низкочастотную область, либо к полному ее исчезновению.

Предшествующие аналитические исследования показали, что внешние и внутренние структуры клетки могут быть селективно изучены путем изменения частоты внешнего генератора. На низких частотах возможно исследование электрических характеристик мембраны и поверхности клетки, а на высоких частотах – электрических характеристик ее цитоплазмы.

Описание экспериментальной установки

Схема используемой для изучения вязкоупругих характеристик эритроцитов установки приведена на рисунке 2.

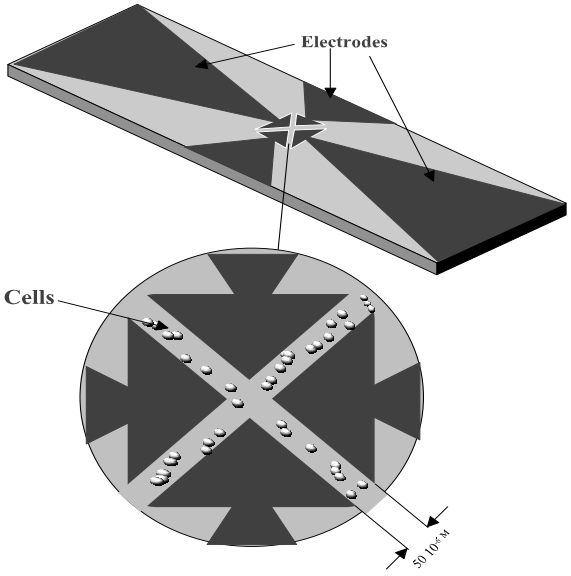


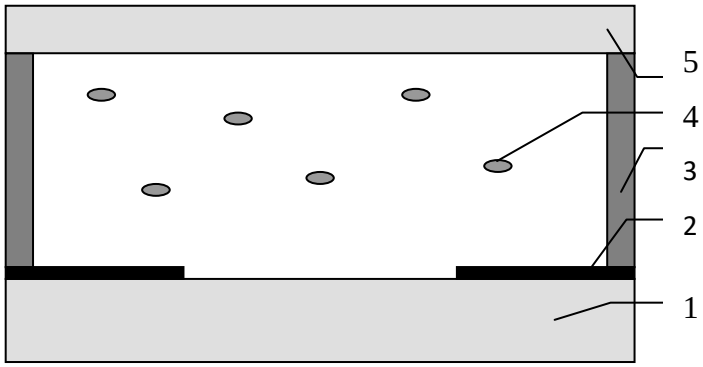
Примечание: 1 – оптический микроскоп; 2 – измерительная ячейка; 3 – цифровая видеокамера; 4 – генератор; 5 – осциллограф; 6 – компьютер; 7 – монитор.

Рисунок А 2 – Схема комплекса измерительной аппаратуры

Ячейка для измерения вязкоупругих характеристик клеток состоит из двух плоскопараллельных стеклянных пластин, на одной из которых методом напыления нанесены хромовые электроды. Геометрия электродов измерительной ячейки представлена на рисунке 3. Расстояние между электродами 60 мкм, высота напыления 0,2 мкм, покровное стекло ложится на диэлектрик высотой 40 мкм.

Ячейка устанавливается на подвижный столик оптического микроскопа, с помощью которого осуществляется наблюдение.



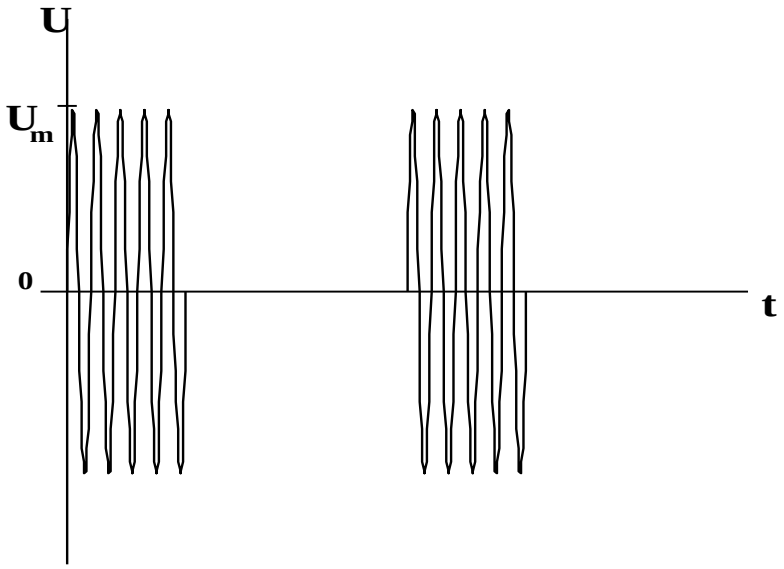


Примечание: 1 – предметное стекло; 2 – хромовый электрод; 3 – диэлектрик; 4 – эритроцит; 5 – покровное стекло.

Рисунок А 3 – Схема измерительной ячейки:

Электроды измерительной ячейки подключали к генератору переменного напряжения. Форму зондирующего сигнала контролировали осциллографом. От генератора на измерительную ячейку подавали импульсное напряжение

прямоугольной формы. Форма и временные характеристики импульса приведены на рисунке 4.



Примечание: T – период повторения импульсов; τ – длительность импульса; (T/τ = 23) – скважность.

Рисунок А 4 – Форма импульса напряжения на электродах измерительной ячейки, используемая при исследовании деформации клеток

Измерительную ячейку устанавливали на подвижный стол оптического микроскопа. Микроскоп предназначен для визуального наблюдения и регистрации с помощью фотонасадки процессов взаимодействия клеток с неоднородным переменным электрическим полем. Наблюдение и регистрация велись в проходящем свете с суммарным увеличением 150–300 крат. Движение клеток к электродам и их деформация под действием электрического поля записывались с помощью цифровой видеокамеры марки «SONY» с 4,5 мм ПЗС, установленной на микроскопе в качестве фотонасадки, при этом частота оцифровки составляла 25 кадров в секунду.

Численный анализ деформации и вязкоупругих характеристик клетки был проведен на основе дифференциального уравнения.

Методика и условия измерений

Для проведения исследования электрических и вязкоупругих показателей методом диэлектрофорезакровь объемом 2 мл забирали вокутайнерами в 3,7 % цитратный буфер в соотношении 9:1, через 1 час 9,7–12 мкл крови вносили в 0,3 М раствор сахарозы (pH = 7,36) с коэффициентом k 0,9–1,1 : 29–31 и переносили суспензию исследуемых эритроцитов с концентрацией клеток $1{,}6–1{,}8 \cdot 10^5$/ мкл в измерительную кювету. Сразу после разведения эритроцитов производились измерения.

Измерение электрических и вязкоупругих характеристик клетки осуществляли в следующей последовательности. Измерительную ячейку устанавливали на подвижный стол микроскопа и фиксировали на нём. Микроскоп фокусировали на грань электрода в области измерительной камеры. Пипеткой под покровное стекло в измерительную камеру вносилась свежеприготовленная суспензия клеток. После того как клеточная суспензия заполняла пространство измерительной камеры и приходила в состояние покоя, в ней создавалось гармоническое электрическое поле средней напряжённостью ($E = (1{,}60 \pm 0{,}04) \cdot 10^5$) В/м и различными частотами от $(0{,}05 \pm 0{,}004) \cdot 10^6$ Гц до $(1{,}00 \pm 0{,}05) \cdot 10^6$ Гц. Измерения электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов проводили на четырех фиксированных частотах: $5 \cdot 10^4$ Гц, 10^5 Гц, $5 \cdot 10^5$ Гц и 10^6 Гц.

Поведение клеток от внесения их под покровное стекло до оседания на электродах контролировалось и записывалось с помощью комплекса видеоаппаратуры. Полученное видеоизображение подавалось в компьютер для дальнейшей обработки с помощью программных модулей распознавания. Следует отметить, что несомненным плюсом измерений электрических и вязкоупругих свойств методом диэлектрофореза является сохранение жизнеспособности эритроцитов.

Оценивали: средний диаметр (м); доли дискоцитов, сфероцитов, деформированных клеток (%); характер поверхности (усл. ед.); поляризуемость клеток на разных частотах диапазона ($м^3$); относительную поляризуемость (соотношение величины показателя на 10^6 Гц к 10^5 Гц); обобщенные показатели жесткости (Н/м); вязкости (Па·с); электропроводность мембран (См/м); индексы деструкции (на разных частотах диапазона) (%) и агрегации (усл. ед.); амплитуду деформации эритроцитов на частоте 10^6 Гц (м); степень деформации клеток на частоте (5×10^5) Гц (%); емкость мембран эритроцитов (Ф); скорость движения клеток к электродам (мкм/с); положение равновесной частоты (Гц); величину дипольного момента (Кл·м).

Для распознавания образа клеток и компьютерной обработки данных использовали пакет оригинальных программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода составила 7–12 %.

По данному методу аттестован государственный эталон единицы величины электрической поляризуемости биологических объектов 1-го разряда (удостоверение государственного эталона физической величины поляризуемости от 17.01.2017, сертификат калибровки № 25-02 ФГУП СНИИМ от 21.11.2016, свидетельство об аттестации государственного эталона единицы электрической поляризуемости № 0195-1 от 22.11.2016).

Создана и аттестована референтная методика измерения амплитуды деформации эритроцитов (ФГУП СНИИМ, 2017 г.).

Зарегистрирована программа по обработке данных, полученных методом диэлектрофореза: Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ 2016618155 Российская Федерация. Определение параметров эритроцитов с помощью неоднородного переменного электрического поля / К. В. Генералов, В. М. Генералов, М. В. Кручинина, Г. В. Шувалов ; заявитель и правообладатель Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (RU); Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт терапии и

профилактической медицины» (RU); Федеральное государственное унитарное предприятие «Сибирский научно-исследовательский институт метрологии» (RU). – № 2016618155 ; заявл. 25.05.2016 ; опубл. 20.08.2016. – 1 с.

В таблице А 1 представлены данные по воспроизводимости результатов, полученных методом диэлектрофореза. Ошибка воспроизводимости метода составила 7–12 %.

Таблица А 1 – Воспроизводимость результатов, полученных методом диэлектрофореза эритроцитов (Er)

Показатели электрич. и вязкоупругих свойств (Er)	Средний радиус Er, (м)	Поляризу-емость ($м^3$) 10^6 Гц	Жесткость Er, (Н/м)	Амплитуда дефор-мации, (м)	Вязкость (Па·с)	Индекс агрегации	Электро-провод-ность, (см/м)
Величина средней (X)	$3{,}55\cdot10^{-6}$	$1{,}93\cdot10^{-15}$	$1{,}16\cdot10^{-4}$	$6{,}83\cdot10^{-7}$	0,62	0,018	$2{,}83\cdot10^{-5}$
Стандартн. ошибка (m)	$4{,}76\cdot10^{-8}$	$7{,}56\cdot10^{-17}$	$1{,}84\cdot10^{-6}$	$1{,}62\cdot10^{-8}$	0,015	$2{,}6\cdot10^{-4}$	$2{,}8\cdot10^{-6}$
Стандартн. отклонение (□)	$1{,}51\cdot10^{-7}$	$2{,}39\cdot10^{-16}$	$5{,}83\cdot10^{-6}$	$5{,}14\cdot10^{-8}$	0,047	$8{,}23\cdot10^{-4}$	$8{,}85\cdot10^{-6}$
Коэффиц. вариации (%)	4,24	12,34	5,02	7,52	7,62	4,49	5,12

Совместно с сотрудниками Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Кольцово, Новосибирская область) на базе использования метода диэлектрофореза созданы следующие патенты:

1. Патент на изобретение № 2485507 Российская Федерация, С2 МПК G01N33/483(2006.01). Способ диагностики мужских и женских форм бесплодия : заявл. 28.09.2011; опубл. 20.06.2013 / А. А. Громов, М. В. Кручинина, В. М. Генералов, А. В. Рабко. – Бюл. № 17.

2. Патент на изобретение № 2567846 Российская Федерация, C2 МПК G01N33/48(2006.01). Неинвазивный способ диагностики степени фиброза печени : заявл. 14.05.2013; опубл. 10.11.2015/ М. В. Кручинина, М. И. Воевода, С. А. Курилович, А. А. Громов, В. М. Генералов, К. В. Генералов, А. С. Сафатов, Г. А. Буряк. – Бюл. № 31.

3. Патент на изобретение № 2614735 Российская Федерация, МПК G01N33/483(2006.01). Способ определения массы микрочастицы в переменном электрическом поле : заявл. 24.11.2015; опубл. 28.03.2017 / Генералов К.В., Сафатов А.С., Буряк Г.А., Кручинина М.В., Генералов В.М., Шувалов Г.В. – Бюл. № 10.

4. Патент на полезную модель № 174320 Российская Федерация, U1 МПК GON27/447(2006.01). Измерительная ячейка для диэлектрофоретических исследований : заявл. 09.01.2017; опубл. 11.10.2017 / Г. В. Шувалов, В. М. Генералов, К. В. Генералов, Г. А. Буряк, А. С. Сафатов, М. В. Кручинина, А. В. Байкалов, М. Г. Клековкина, Е. С. Коптев. – Бюл. № 29.

5. Патент на изобретение № 2697202 Российская Федерация, C1 МПК G01N33/49(2006.01), G01N27/00(2006.01), СПК G01N33/49(2019.05), G01N27/00(2019.05). Способ дифференциальной диагностики жировой болезни печени алкогольного и неалкогольного генеза : заявл. 19.06.2018; опубл. 13.08.2019 / М. В. Кручинина, В. М. Генералов, М. В. Паруликова, С. А. Курилович, А. А. Громов, К. В. Генералов, А. С. Сафатов, Г. А. Буряк, Г. В. Шувалов. – Бюл. № 23.

1. Патент на изобретение № 2706429 Российская Федерация, C1 МПК G01N33/487(2006.01), СПК G01N33/487(2019.05). Способ определения комплексной диэлектрической проницаемости биологической клетки в суспензии : заявл. 15.11.2018; опубл. 19.11.2019 / В. М. Генералов, А. С. Сафатов, О. В. Наумова, К. В. Генералов, М. В. Кручинина, А. А. Громов. – Бюл. № 32.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(справочное)

Справка из ФИПС о приоритете заявки на патент

Форма № 94 ИЗ, ПМ, ПО-2016

Федеральная служба по интеллектуальной собственности
Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Федеральный институт промышленной собственности»
(ФИПС)

Бережковская наб., 30, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП-5, 125993 Телефон (8-499) 240-60-15 Факс (8-495) 531-63-18

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ И РЕГИСТРАЦИИ ЗАЯВКИ

30.03.2021	018767	2021108723
Дата поступления	*Входящий №*	*Регистрационный №*

(22) ДАТА ПОДАЧИ ЗАЯВКИ 30 МАР 2021 ОТДЛ17	(21) РЕГИСТРАЦИОННЫЙ №	ВХОДЯЩИЙ №
	(85) ДАТА ПЕРЕВОДА	
(71) [illegible] (72) [illegible] (73) [illegible] (74) [illegible]	АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово, ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора, мк. патентным отделом Мистюрину Ю.М. Телефон: 383-363-07-80 доб. 10-86 факс Адрес электронной почты: [illegible] АДРЕС ДЛЯ СЕКРЕТНОЙ ПЕРЕПИСКИ	
ЗАЯВЛЕНИЕ о выдаче патента Российской Федерации на изобретение	В Федеральную службу по интеллектуальной собственности Бережковская наб., д. 30, корп. 1, г. Москва, Г-59, ГСП-5, 125993, Российская Федерация	
(54) НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ: Способ диагностики инфекционных инвазивных заболеваний животных на основе совокупности электрических и пожоэкструктур параметров эритроцитов		
(71) ЗАЯВИТЕЛЬ: 1. Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора), адрес местонахождения: Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. 2. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ ИЦиГ СО РАН), Адрес местонахождения: Российская Федерация, 630090, Новосибирск, проспект акад. Лаврентьева, д. 10.	ИДЕНТИФИКАТОРЫ ЗАЯВИТЕЛЯ ОГРН 1035475048122 КПП 543301001 ИНН 5433161342 ОГРН 1025403657110 КПП 540601001 ИНН 5405100138 СНИЛС ДОКУМЕНТ КОД СТРАНЫ (RU)	
(74) ПРЕДСТАВИТЕЛЬ(И) ЗАЯВИТЕЛЯ		
Фамилия, имя, отчество (полное наименование) Адрес местожительства или местонахождения, почтовый адрес, телефон, факс, адрес электронной почты		

ОТДЛ17
01 АПР 2021
240-60-15

Общее количество документов в листах	82	Лицо, зарегистрировавшее документы
Из них: - количество листов комплекта изображений изделия *(для промышленного образца)*	0	Соколова Е.А.
Количество платежных документов	1	

Сведения о состоянии делопроизводства по заявкам размещаются в Открытых реестрах на сайте ФИПС по адресу: www.fips.ru/registers-web