

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов как предикторы обострения при воспалительных заболеваниях кишечника

М.В. Кручинина^{1,2}, И.О. Светлова^{1,2}, А.В. Азгалдян¹, А.А. Громов¹, В.М. Генералов³, И.Н. Яковина⁴, А.А. Шестов⁵

¹ НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

² Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

³ Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора 630559, Новосибирская область, р. п. Кольцово

⁴ Новосибирский государственный технический университет 630073, г. Новосибирск, просп. Карла Маркса, 20

⁵ Пенсильванский университет США, 19104, г. Пенсильвания, Уолнат-стрит, 3101

Резюме

Цель работы – у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК), обследованных в динамике, изучить электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов в качестве возможных предикторов обострения заболевания. **Материал и методы.** Выполнены обследования 23 пациентов с ВЗК (возраст $37,9 \pm 4,3$ года): первое – в стадию обострения, второе, через 6–12 месяцев, – в стадию ремиссии. Дополнительно обследовано 36 пациентов с ВЗК в стадии ремиссии для оценки предиктивных возможностей параметров эритроцитов с последующим мониторингом их состояния в течение 6–12 месяцев. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов исследованы методом диэлектрофореза. Статистическая обработка проведена с использованием системы методов машинного обучения – Random Forest, MATLAB (R2019a, MathWorks). **Результаты и их обсуждение.** Выявлены параметры эритроцитов, являющиеся предикторами обострения ВЗК: увеличение доли деформированных клеток ($p = 0,0001$), измененный характер поверхности эритроцитов ($p = 0,011$), повышенная электропроводность мембран ($p = 0,0019$), сниженный дипольный момент ($p = 0,0015$) и скорость поступательного движения эритроцитов к электродам ($p = 0,005$) (парный и непарный методы Volcano plot), сниженная амплитуда деформации на частоте 5×10^5 Гц ($p = 0,009$) и емкость мембран эритроцитов ($p = 0,029$) (непарный метод Volcano plot). Значимыми оказались показатели, связанные с изменением заряда эритроцитов, структурой их мембран и уровнем энергетического обмена. Установлена высокая диагностическая точность как предикторов следующих показателей: доля деформированных клеток (AUC 0,939), обобщенный показатель вязкости (AUC 0,932). Кластерный анализ значений параметров эритроцитов – предикторов обострения – позволил провести стратификацию риска развития обострения: при максимально измененной величине – развитие обострения через 2,5–4,5 месяца, при промежуточном уровне – через 4–6 месяцев, при минимальных изменениях – через 8–12 месяцев (предсказательная точность – 92 %). **Заключение.** Выявленные электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов следует рассматривать как перспективные предикторы развития обострения у пациентов с ВЗК.

Ключевые слова: электрические, вязкоупругие параметры эритроцитов, предикторы, обострение, воспалительные заболевания кишечника.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. 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, рег. № AAAA-A17-117112850280-2.

Автор для переписки: Кручинина М.В., e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Для цитирования: Кручинина М.В., Светлова И.О., Азгалдян А.В., Громов А.А., Генералов В.М., Яковина И.Н., Шестов А.А. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов как предикторы обострения при воспалительных заболеваниях кишечника. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2021; 41 (5): 96–112. doi: 10.18699/SSMJ20210513

Electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes as predictors of exacerbation in inflammatory bowel diseases

M.V. Kruchinina^{1,2}, I.O. Svetlova^{1,2}, A.V. Azgaldyan¹, A.A. Gromov¹, V.M. Generalov³, I.N. Yakovina⁴, A.A. Shestov⁵

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine – Branch of the Institute of Cytology and Genetics SB RAS 630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1

² Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia 630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

³ State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» of Rospotrebnadzor 630559, Koltsovo, Novosibirsk region

⁴ Novosibirsk State Technical University 630073, Novosibirsk, Karl Marx av., 20

⁵ University of Pennsylvania USA, PA 19104, Pennsylvania, Walnut str., 3101

Abstract

The aim of this work is to study the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes for patients with inflammatory bowel diseases (IBD), examined in dynamics, as possible predictors of exacerbation of the disease. **Material and methods.** In dynamics, 23 patients with IBD (37.9 ± 4.3 years) were examined. The first examination was carried out in the stage of exacerbation, the second – after 6–12 months – in the stage of remission of IBD. Additionally, 36 patients with IBD in remission were examined to assess the predictive capabilities of erythrocyte parameters with subsequent monitoring of their condition for 6–12 months. The electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes were investigated by dielectrophoresis. Statistical processing was carried out using a system of machine learning methods – Random Forest, MATLAB (R2019a, MathWorks). **Results and discussion.** The parameters of erythrocytes, which are predictors of exacerbation of IBD, were revealed: an increase in the proportion of deformed cells ($p = 0.0001$); altered nature of the erythrocyte surface ($p = 0.011$); increased electrical conductivity of membranes ($p = 0.0019$); reduced dipole moment ($p = 0.0015$), the rate of directional movement of erythrocytes to the electrodes ($p = 0.005$) (paired and unpaired Volcano plot methods), reduced deformation amplitude at a frequency of 5×10^5 Hz ($p = 0.009$), capacity of erythrocyte membranes ($p = 0.029$) (unpaired Volcano plot method). Indicators associated with changes in the charge of cells, the structure of erythrocyte membranes and the level of energy metabolism of the cell turned out to be significant. A high diagnostic accuracy of these indicators was established as predictors: the proportion of deformed cells (AUC 0.939), a summarized viscosity index (AUC 0.932). Cluster analysis of the values of erythrocyte parameters – predictors of exacerbation made it possible to stratify the risk of exacerbation: at the most altered levels of parameters – the development of exacerbation after 2.5–4.5 months, intermediate levels – after 4–6 months, minimally changed – after 8–12 months (predictive accuracy – 92 %). **Conclusions.** The revealed electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes should be considered as promising predictors of exacerbation in patients with IBD.

Key words: electrical, viscoelastic parameters of erythrocytes, predictors, exacerbation, inflammatory bowel disease.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Acknowledgments. The work was carried out within the framework of the theme «Epidemiological monitoring of the state of health of the population and the study of molecular genetic and molecular biology mechanisms of the development of common therapeutic diseases in Siberia to improve approaches to their diagnosis, prevention and treatment» GZ No. 0324-2018-0001, Reg. No. AAAA-A17-117112850280-2.

Corresponding author: Kruchinina M.V., e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Citation: Kruchinina M.V., Svetlova I.O., Azgaldyan A.V., Gromov A.A., Generalov V.M., Yakovina I.N., Shestov A.A.: Electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes as predictors of exacerbation in inflammatory bowel diseases. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2021; 41 (5): 96–112. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20210513

Введение

Нарастающая распространенность воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) в популяции, тяжелое осложненное течение у значительной части пациентов, существенно снижающее качество их жизни, большие материальные затраты на лечение и социальную поддержку определяют актуальность поиска новых диагностических подходов к данной патологии. Неясность этиологии язвенного колита (ЯК) и болезни Крона (БК), частое сходство их клинико-эндоскопических проявлений, отсутствие «золотого стандарта» диагностики, затрудняющего выбор прицельной терапии, настоятельно требуют повышения эффективности имеющихся в настоящее время диагностических технологий [1].

Значительные усилия направлены на поиск биомаркеров, которые 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 качестве биомаркеров прогнозирования течения ВЗК рассматривают содержание С-реактивного белка [2], фекального кальпротектина, лактоферрина [3], сывороточного альбумина [4], антител к порину внешней мембраны (OmpC) [5], полиморфизм гена *NOD2*, ассоциированный со стриктурой кишки [6], с уровнем диагностической точности от 71,2 до 94,8 %. Однако использование данных параметров не лишено недостатков, связанных как со сложностью определения ряда показателей, так и с влиянием ряда дополнительных неспецифических факторов, затрудняющих трактовку полученных результатов.

Данные литературы свидетельствуют о том, что эритроцит весьма чувствителен к воздействию внешних и внутренних факторов, в ответ на которые изменяются электрические и вязкоупругие характеристики клетки [7–9]. Можно предположить, что электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, исследованные методом диэлектрофореза, имеют связанные со стадией заболевания особенности, которые можно использовать в качестве предикторов обострения ВЗК.

Цель работы – у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике, изучить электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов в качестве возможных предикторов обострения заболевания.

Материал и методы

Обследовано 23 больных ВЗК (средний возраст $37,9 \pm 4,3$ года), из них 10 пациентов с ЯК,

9 – с БК, 4 – с неклассифицируемым колитом (НКК). Первое обследование проведено в стадию обострения заболевания, второе – через 6–12 месяцев, в стадию ремиссии. Электрические и вязкоупругие показатели эритроцитов изучали до начала терапии. У всех пациентов с ВЗК диагностировано поражение толстой кишки. Преобладали лица с рецидивирующим течением заболевания, средняя продолжительность заболевания в группе составила $5,1 \pm 3,6$ года, а также со среднетяжелым течением (17 человек, 73,9 %; остальные 6 (23,1 %) человек имели легкое течение). На момент первого обследования в стадии обострения у пациентов с ВЗК отмечена умеренная клиническая и эндоскопическая активность. При оценке тяжести настоящей атаки установлено, что у четырех больных (17,4 %) (по два пациента с ЯК и НКК) индекс Мейо составлял от 3 до 5, что соответствовало легкой атаке, в то время как у большей части больных с ЯК и НКК (10 человек, 43,5 %) он находился в пределах от 6 до 9 баллов (среднетяжелая атака). Оценка индекса активности БК (индекса Беста) показала, что у пациентов в стадии обострения он составлял $173,2 \pm 28,5$ балла, что соответствовало легкой атаке. У большей части обследованных (16 человек, 69,6 %) в стадии обострения выявлена анемия легкой и средней степени тяжести, при этом у пациентов с ЯК преобладала железодефицитная анемия, у больных БК – анемия воспалительных заболеваний и смешанного генеза. Из внекишечных проявлений ВЗК наблюдались артропатии (10 человек, 43,5 %), у 5 пациентов (21,7 %) выявлен стеатоз печени и стеатогепатит.

Второе исследование параметров эритроцитов у больных ВЗК проведено через 6–12 месяцев. Пациенты получали терапию кортикостероидами, аминосалицилатами, иммуномодуляторами. К моменту второго обследования индекс Мейо у лиц с ЯК и НКК не превышал 2 баллов, у больных с БК индекс Беста составил $135,0 \pm 6,5$ балла, что свидетельствовало о ремиссии заболевания.

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

Для проверки предиктивных возможностей параметров эритроцитов дополнительно обследованы 36 пациентов с ВЗК в стадии ремиссии (средний возраст $38,1 \pm 5,7$ года), которая длилась от 6 до 12 месяцев. Из них 13 пациентов страдали ЯК, 10 – БК, 13 – НКК; в 25 (71,4 %) случаях течение было среднетяжелым рецидивирующим, в 11 – легким. На момент обследования неактивная стадия заболевания подтверждена данными кли-

ники, эндоскопии, биохимии и фекальными маркерами. Изменения характеристик заболевания в данной группе отслеживались в течение последующего года.

Для исследования эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле клетки красной крови получали из цельной крови пациентов, взятой из вены. Подробно методика описана в монографии [9]. Оценивали долю дискоцитов, сфероцитов, деформированных клеток (%), характер поверхности (усл. ед.), поляризуемость клеток на разных частотах диапазона (м^3), относительную поляризуемость (соотношение величин показателя на 10^6 Гц и 10^5 Гц), обобщенные показатели жесткости (Н/м), вязкости ($\text{Па} \times \text{с}$), электропроводность мембран (См/м), 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 ($\text{Кл} \times \text{м}$). Для компьютерной обработки данных использовался пакет оригинальных программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода составляла 7–12 %.

При статистической обработке данных определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова – Смирнова. В случаях нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD), данные представлялись как $M \pm SD$, при отклонении распределения от нормального вычислялись медианы (Me) с указанием межквартильного размаха (Me [Q1; Q3]); значимость различий показателей оценивалась с использованием соответственно критериев Стьюдента, Пирсона или Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса, χ^2 , связи между признаками – вычислением коэффициента линейной корреляции Пирсона или рангового коэффициента корреляции Спирмена. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05.

Для определения параметров 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). Для выявления различий между параметрами эритроцитов, ассоциированными с разными стадиями ВЗК, применяли дискриминантный анализ методом частичных наименьших квадратов (partial least squares discriminant

analysis – ortho-PLS-DA). Для выявления электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, являющихся предикторами обострения, использованы парный (сопоставление величин параметра одного пациента в стадии обострения и ремиссии) и непарный (сравнение величин 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, MathWorks) и языка программирования R с использованием стандартных библиотек обучающих классификаций и наборов инструментов статистики [10].

Оценка диагностической точности показателей в качестве предикторов обострения произведена с помощью ROC-анализа.

Исследование выполнено с одобрения Комитета биомедицинской этики НИИ терапии и профилактической медицины – филиала ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН» (17.12.2018, протокол № 120). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Результаты

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов в группе пациентов с ВЗК с наступившей ремиссией в ходе динамического наблюдения представлены в табл. 1.

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 доли дискоцитарных форм, 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 возрастание поляризуемости на низких частотах при развитии ремиссии. Выявлено отчетливое смещение равновесной частоты в низкочастотный диапазон в динамике по оси «обострение – ремиссия».

Наиболее значимыми параметрами, 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 ча-

Таблица 1. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с ВЗК в динамике наблюдения

Table 1. Electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes of patients with IBD during follow-up

Показатель	Пациенты с ВЗК в стадии обострения, $n = 23$	Пациенты с ВЗК в стадии ремиссии при наблюдении в динамике, $n = 23$	p
Доля дискоцитов, %	65 [47; 73]	70 [60; 85]	0,269
Доля сфероцитов, %	24 [21; 43]	19 [11; 23]	0,170
Доля деформированных клеток, %	70 [57; 80]	28 [21; 38]	0,0069
Измененный характер поверхности клеток, усл. коэффициент	$1,74 \pm 0,37$	$1,21 \pm 0,42$	0,0001
Амплитуда деформации (м) на частоте 10^6 Гц	$6,21 \times 10^{-6}$ [$5,22 \times 10^{-6}$; $6,52 \times 10^{-6}$]	$6,74 \times 10^{-6}$ [$6,47 \times 10^{-6}$; $6,91 \times 10^{-6}$]	0,093
Степень изменения амплитуды деформации на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц, %	54 [38; 58]	64 [57; 73]	0,063
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	$9,51 \times 10^{-6}$ [$9,18 \times 10^{-6}$; $10,12 \times 10^{-6}$]	$8,67 \times 10^{-6}$ [$8,44 \times 10^{-6}$; $9,02 \times 10^{-6}$]	0,042
Обобщенный показатель вязкости, Па×с	0,74 [0,72; 0,79]	0,69 [0,68; 0,72]	0,093
Поляризуемость (м^3) на частоте 10^6 Гц	$5,67 \times 10^{-15}$ [$2,99 \times 10^{-15}$; $6,38 \times 10^{-15}$]	$5,34 \times 10^{-15}$ [$4,72 \times 10^{-15}$; $5,96 \times 10^{-15}$]	0,791
Поляризуемость (м^3) на частоте $0,5 \times 10^6$ Гц	$4,74 \times 10^{-15}$ [$2,13 \times 10^{-15}$; $5,93 \times 10^{-15}$]	$3,9 \times 10^{-15}$ [$2,95 \times 10^{-15}$; $8,56 \times 10^{-15}$]	0,929
Поляризуемость (м^3) на частоте $0,1 \times 10^6$ Гц	$-4,99 \times 10^{-15}$ [$-3,14 \times 10^{-15}$; $-7,99 \times 10^{-15}$]	$-4,13 \times 10^{-15}$ [$-2,82 \times 10^{-15}$; $-5,2 \times 10^{-15}$]	0,536
Поляризуемость (м^3) на частоте $0,05 \times 10^6$ Гц	$-3,04 \times 10^{-15}$ [$-2,33 \times 10^{-15}$; $-5,36 \times 10^{-15}$]	$-3,71 \times 10^{-15}$ [$-2,11 \times 10^{-15}$; $-5,35 \times 10^{-15}$]	0,859
Относительная поляризуемость	0,92 [0,74; 1,12]	1,15 [1,09; 1,44]	0,251
Электропроводность, См/м	$8,64 \times 10^{-5}$ [$7,23 \times 10^{-5}$; $9,12 \times 10^{-5}$]	$5,71 \times 10^{-5}$ [$5,42 \times 10^{-5}$; $6,23 \times 10^{-5}$]	0,042
Емкость клеточной мембраны, Ф	$3,7 \times 10^{-14}$ [$3,4 \times 10^{-14}$; $4,6 \times 10^{-14}$]	$6,84 \times 10^{-14}$ [$5,04 \times 10^{-14}$; $7,78 \times 10^{-14}$]	0,111
Скорость движения эритроцитов к электродам, мкм/с	4 [3; 5]	4,9 [4,1; 5,1]	0,063
Равновесная частота, Гц	$0,77 \times 10^6$ [$0,71 \times 10^6$; $1,58 \times 10^6$]	$0,39 \times 10^6$ [$0,28 \times 10^6$; $0,47 \times 10^6$]	0,042
Дипольный момент, Кл × м	$3,92 \times 10^{-21}$ [$3,68 \times 10^{-21}$; $4,98 \times 10^{-21}$]	$6,17 \times 10^{-21}$ [$4,76 \times 10^{-21}$; $6,92 \times 10^{-21}$]	0,021

стоты ($p = 0,042$), 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 (рис. 1).

Визуализация различий вязкоупругих параметров эритроцитов в зависимости от стадии заболевания представлена на тепловой карте (рис. 2), где слева – величины параметров эритроцитов

пациентов в стадии ремиссии, справа – в стадии обострения.

Выявлено восемь показателей, потенциальных биомаркеров предикции обострения, при использовании парного t-теста и 11 параметров – при использовании непарного подхода (рис. 3, а), величины некоторых из них представлены на рис. 3, б.

На первом этапе к числу наиболее значимых параметров предикции обострения были отнесены доля деформированных клеток, обобщенные

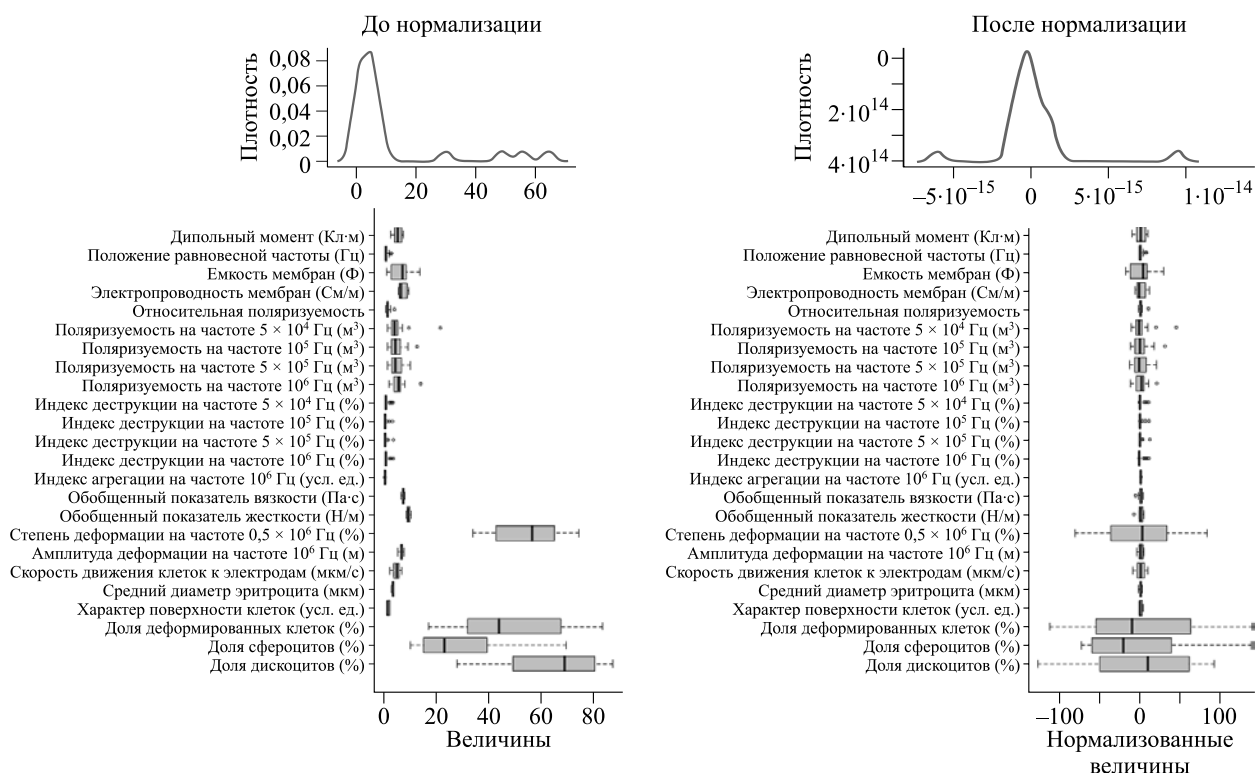


Рис. 1. Нормализация уровней электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике (слева – параметры до нормализации, справа – после нормализации)

Fig. 1. Normalization of the levels of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes for patients with IBD examined in dynamics (on the left – parameters before normalization, on the right – after normalization)

показатели вязкости и жесткости, амплитуда деформации клеток на частоте 10^6 Гц.

Применение на втором этапе анализа метода Volcano plot (парная статистика) выявила 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 (рис. 4, табл. 2). Использование метода Volcano plot (непарная статистика) электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов для выявления маркеров предикции обострения позволило выявить ряд совпадающих с результатами парной статистики и перечень отличающихся параметров эритроцитов (табл. 3).

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 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 компонент (ortho-PLS-DA) представлены на рис. 5. Кроме пересекающейся области, отражающей совпадающие по уровню параметры эритроцитов, отчетливо видны отличающиеся характеристики.

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 параметров, ассоциированных со стадией ВЗК (рис. 6).

На рис. 7 представлены корреляции 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, а обратные – с амплитудой деформации на частоте 10^6 Гц, скоростью поступательного движения клеток к электродам, величиной дипольного момента, средним

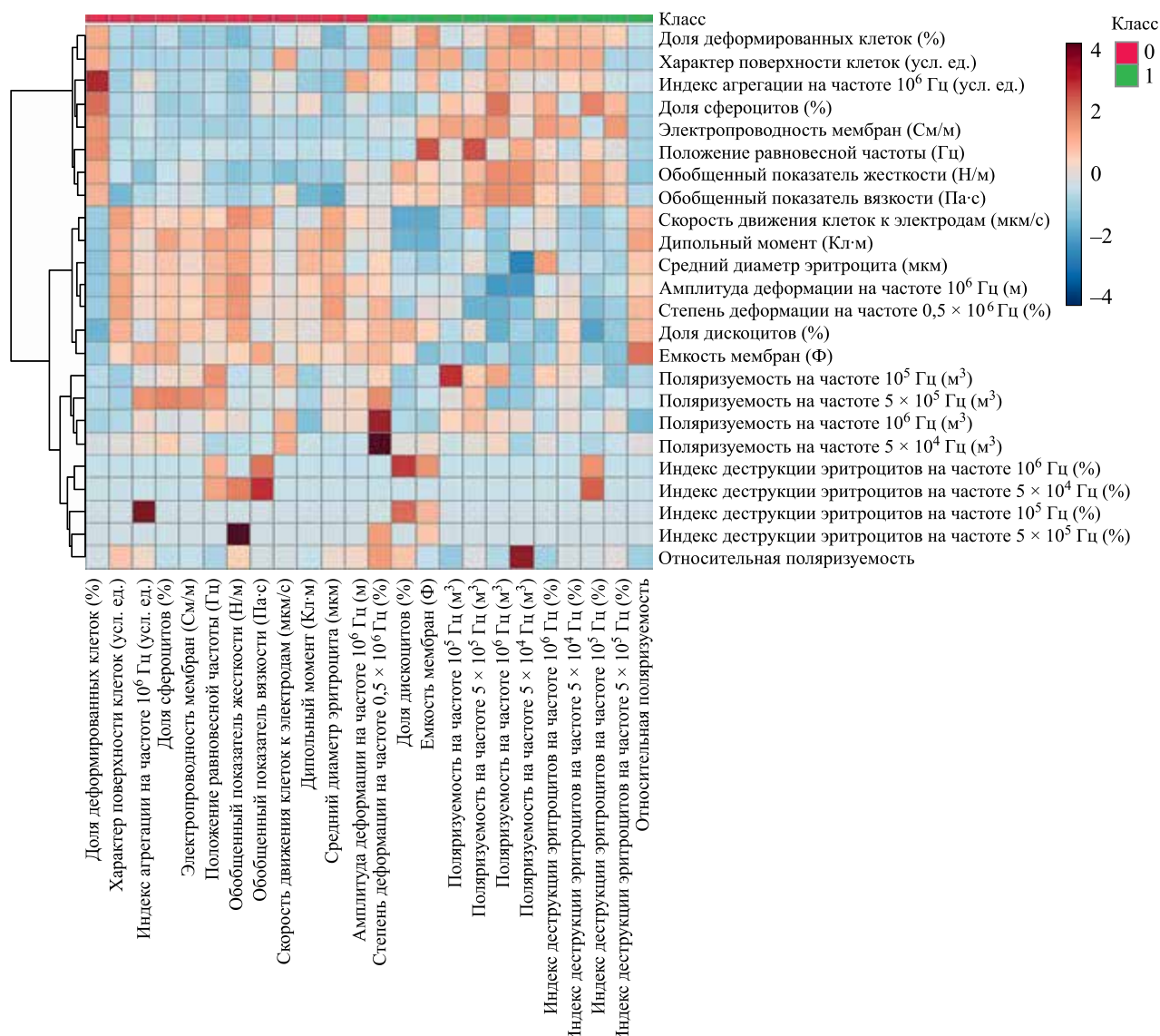


Рис. 2. Тепловая карта (heatmap) визуализации электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике: слева (красная полоса) – величины параметров эритроцитов в стадии ремиссии, справа (зеленая полоса) – в стадии обострения

Fig. 2. Heatmap for visualization of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes for patients with IBD examined in dynamics: on the left (red bar) – the levels of parameters of erythrocytes in remission, on the right (green bar) – in the stage of exacerbation

диаметром эритроцитов, степенью деформации клеток на частоте 5×10^5 Гц, емкостью мембран.

При проведении ROC-анализа для предикции обострения высокий диагностический потенциал продемонстрировали даже отдельные показатели. На рис. 8 показаны ROC-кривые для доли деформированных клеток (AUC 0,939) и обобщенного показателя вязкости (AUC 0,932), а также значения показателей при обострении и ремиссии в виде диаграмм размаха.

Проведение кластерного анализа с учетом выявленных уровней электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, претендующих на роль предикторов обострения (рис. 9), позволи-

ло выявить три кластера со сходными значениями параметров эритроцитов. На данном рисунке зеленое облако – это кластер пациентов с ВЗК в стадии ремиссии; синее и розовое – кластеры пациентов с ВЗК в стадии обострения; красные точки – пациенты в стадии ремиссии, синие – в стадии обострения.

Из рис. 9 видно, что установленные уровни электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов достаточно четко выделяют пациентов в стадии ремиссии (зеленый кластер), за исключением одного человека, который оказался в данной группе, имея активность ВЗК.

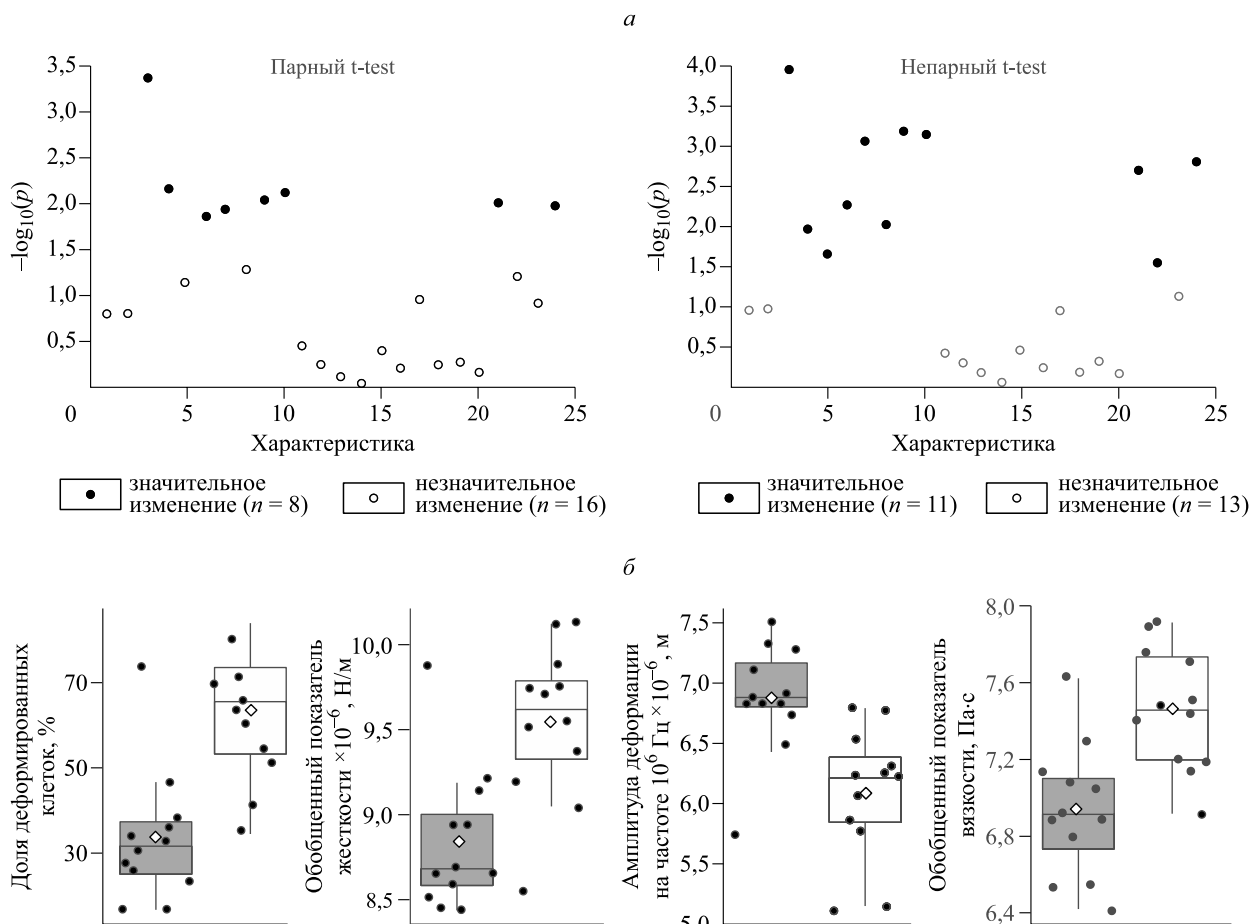


Рис. 3. Выявление предикторов обострения среди электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов с помощью парного и непарного t-теста (а) и их примеры (здесь и на рис. 4, рис. 8 белые столбики – величины показателей в стадии обострения, серые – в стадии ремиссии; данные представлены в виде диаграмм размаха («ящик с усами»): границами ящика служат первый и третий квартили, линия в середине «ящика» — медиана, концы «усов» — минимальное и максимальное значения выборки, точки черного цвета – значения параметра для отдельных пациентов, ромб внутри ящика – среднее арифметическое для данного параметра) (б)

Fig. 3. Predictors of exacerbation among the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes identified using paired and unpaired t-test (a) and some of them (here and in Fig. 4, 8 white bars – indicator value in the stage of exacerbation, grey bars – in the stage of remission) (b)

Пациенты в стадии обострения четко разделились по уровню параметров эритроцитов на два кластера, один из них – голубой – включал лиц с максимально выраженной активностью с наиболее выраженными отклонениями по параметрам эритроцитов. Среди больных данной группы оказался пациент с ЖК 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 величины параметров эритроцитов между максимально отклоняющимися при активном заболевании в пределах голубого кластера и минимальными в стадии ремиссии (зеленый кластер). Подобное промежуточное положение, возможно,

отражает затухание обострения. Действительно, проспективный анализ больных данной группы установил 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 был исследован ряд из них (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) у пациентов с ВЗК – 36 человек, находившихся в стадии ремиссии. Применение кластерного анали-

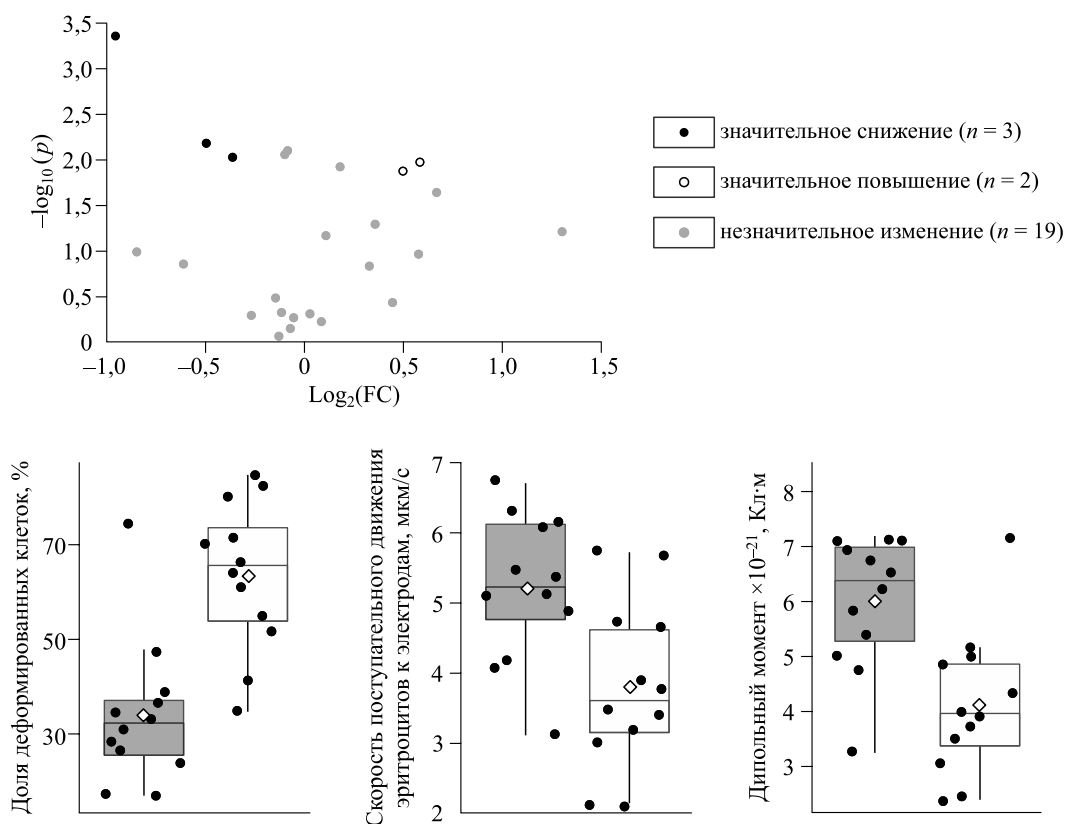


Рис. 4. Исследование методом Volcano plot (парная статистика) электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов, претендующих на роль маркеров предикции обострения, и величины некоторых из них в форме диаграмм размаха у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Fig. 4. Volcano plot (paired statistics) of electrical and viscoelastic indicators of erythrocytes, claiming to be markers of predicting exacerbation, and some of them in the form of box plot in patients with IBD examined in dynamics

за выявило три основных группы по уровням данных параметров эритроцитов (рис. 10).

В кластере с максимально измененными уровнями параметров эритроцитов (голубой) оказались по три пациента с ЯК и БК и один – с НКК. У шестерых больных развилось обострение заболевания в сроки от 2,5 до 4,5 месяца после исследования клеток красной крови. Три человека

с БК и один с ЯК, находившиеся 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 больных, входящих в кластер с минимально измененными параметрами эритроцитов (зеленый), сохранялась

Таблица 2. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, исследованные методом Volcano plot (парная статистика) и претендующие на роль предикторов обострения у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Table 2. Electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes, studied by the Volcano plot method (pair statistics) and claiming to be predictors of exacerbation in patients with IBD, examined in dynamics

Параметр	Кратность изменений (FC)	$\log_2(FC)$	p	$-\log_{10}(p)$
Доля деформированных клеток, %	0,50977	– 0,97208	0,000442	3,3546
Характер поверхности клеток, усл. ед.	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 эритроцитов к электродам, мкм/с	1,4064	0,49202	0,013671	1,8642

Таблица 3. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, исследованные методом Volcano plot (непарная статистика) и претендующие на роль предикторов обострения у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Table 3. Electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes, studied by the Volcano plot method (unpaired statistics) and claiming to be predictors of exacerbation in patients with IBD, examined in dynamics

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов	Кратность изменений (FC)	$\log_2(FC)$	p	$-\log_{10}(p)$
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 эритроцитов 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. ед.	0,7000	-0,51457	0,011436	1,9417
Емкость клеточной мембраны, Ф	1,718	0,78076	0,029885	1,5245

ремиссия в течение года. Предсказательная точность предложенного подхода составила 92 %.

Обсуждение

Проблема поиска биомаркеров прогнозирования рецидива ВЗК продолжает оставаться весьма актуальной. На данную роль претендуют как фекальные, так и некоторые биохимические показатели.

Ряд исследований показал, что у пациентов с неактивной стадией заболевания увеличение содержания фекального кальпротектина предсказывает рецидив заболевания от 1 до 12 месяцев, особенно у больных ЯК [3, 11–15]. В более ранних исследованиях установлено, что повышение величины данного показателя выявляет пациентов, перенесших рецидив в течение 12 месяцев, с чувствительностью примерно 90 % и специфичностью 82 % [11, 12]. F. Costa et al. сообщили, что повышенный уровень фекального кальпротектина имел положительное прогностическое значение 81 % и отрицательное прогностическое значение – 90 % для рецидива ЯК, у пациентов с БК – соответственно 87 и 43 % [14].

Увеличение содержания кальпротектина и лактоферрина выявляли у пациентов с неактивным ВЗК, у которых в течение ближайших 12 месяцев наступал рецидив (для кальпротектина чувствительность составила 69 %, специфичность – 69 %, для лактоферрина – соответственно 62 и 65 %) [15], хотя эти значения были ниже, чем сообщалось в других исследованиях [16–20]. T. Sipponen, K.L. Kolho сообщили, что частота рецидивов среди пациентов с повышенным уровнем фекального кальпротектина была низ-

кой, хотя в этом исследовании более 50 % пациентов находились в ремиссии более одного года [19]. Увеличение концентрации кальпротектина (и, вероятно, лактоферрина) вскоре после разви-

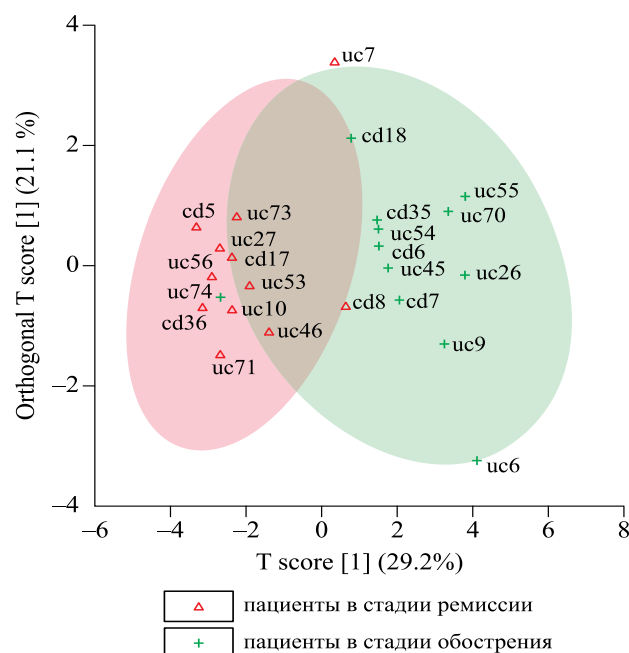


Рис. 5. Метод ortho-PLS-DA в различении электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (парная статистика) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике, между стадией обострения (зеленое облако) и ремиссии (розовое облако)

Fig. 5. The ortho-PLS-DA method in distinguishing the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes (paired statistics) in patients with IBD, examined in dynamics, between the stage of exacerbation (green cloud) and remission (pink cloud)

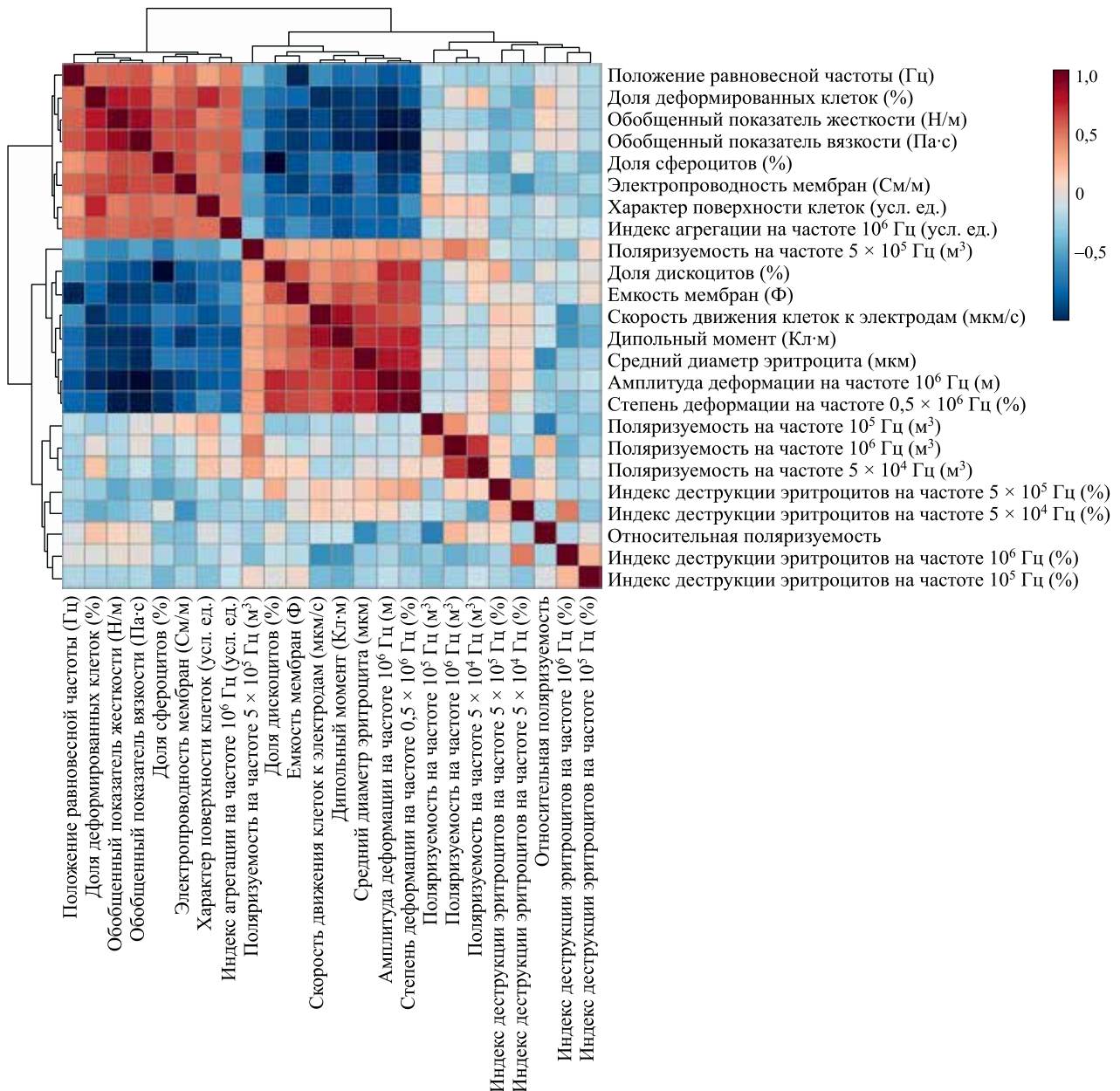


Рис. 6. Тепловая карта (heatmap) корреляций электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов (парная статистика) у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Fig. 6. Heatmap of correlations of erythrocyte electrical and viscoelastic parameters (pair statistics) in patients with IBD examined in dynamics

тия ремиссии может быть лучшим предиктором рецидива в сравнении с повышенным уровнем кальпротектина через 6 месяцев или более после наступления ремиссии.

При интерпретации данных этих исследований важно понимать ограниченность измерения значений фекальных маркеров. Исследование, в котором сравнивались шесть различных результатов определения содержания кальпротектина в кале пациентов с ВЗК, выявило 5-кратную количественную разницу между полученными данными, что показывает необходимость введе-

ния стандартизации [16]. Помимо необходимости продольного измерения, существует значительная внутрииндивидуальная вариативность уровня кальпротектина фекалий в течение дня, поэтому единичное измерение может не быть основой для принятия терапевтических решений [17].

Также изучена возможность по концентрации С-реактивного белка (СРБ) и СОЭ выявлять пациентов, у которых развитие рецидива заболевания наиболее вероятно. Ряд исследований ассоциировал повышение уровня СРБ и/или СОЭ у пациентов с БК с развитием рецидива заболевания

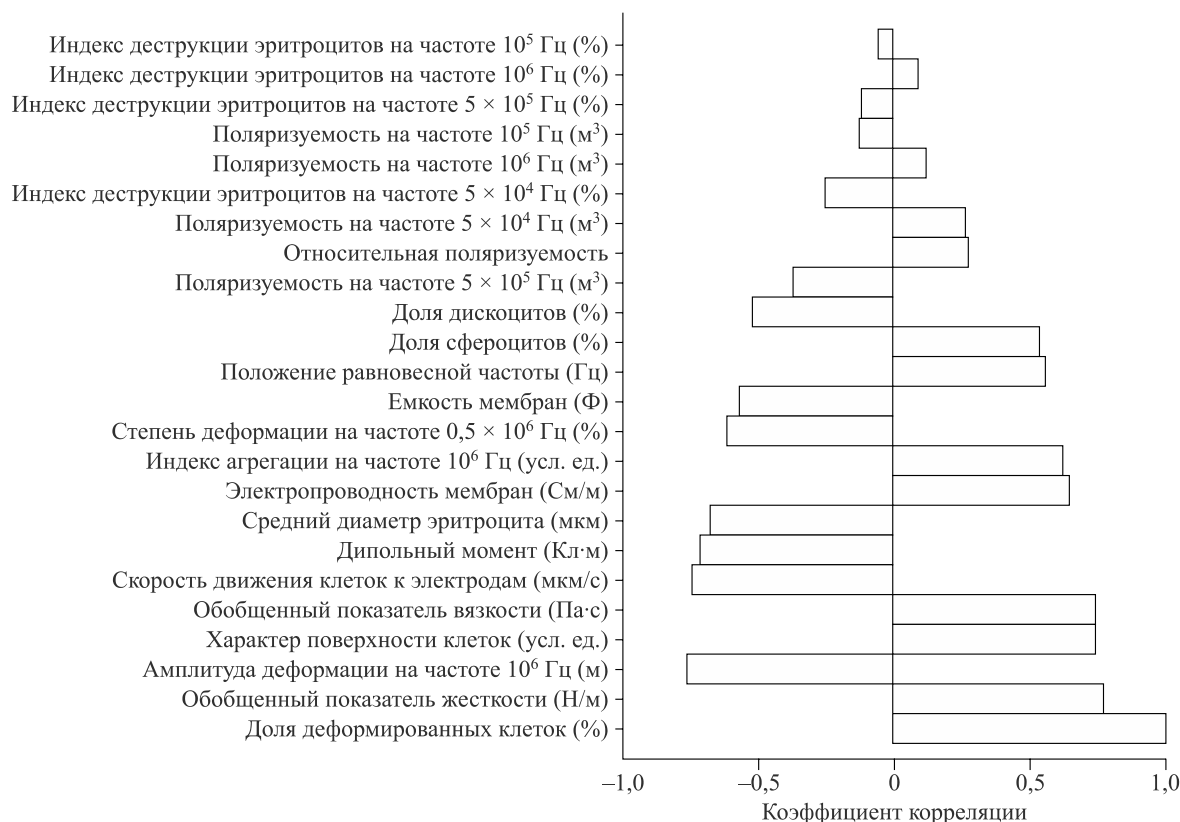


Рис. 7. Корреляции доли деформированных клеток с электрическими и вязкоупругими параметрами эритроцитов

Fig. 7. Correlation of the proportion of deformed cells with the electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes

[18–22]; имеется меньшее количество данных, позволяющих связать содержание этих маркеров с рецидивом ЯК. Так, A. Bitton et al. исследовали маркеры рецидива у 74 пациентов с клинически и эндоскопически неактивным ЯК (27 больных имели рецидив в течение периода наблюдения); с рецидивом заболевания было связано выявление базального плазмозитоза в образцах ректальных биоптатов, но не повышение уровня СРБ или СОЭ [23].

Кроме СОЭ, ряд показателей эритроцитов используется для оценки тяжести настоящей атаки, степени тяжести течения заболевания (количество эритроцитов, уровень гемоглобина, гематокрит [24, 25]. Показано, что показатель RDW – ширина распределения клеток по объему – коррелирует с активностью заболевания при ВЗК и может служить для дифференцирования БК от ЯК [26].

Следует отметить, что значимыми маркерами обострения ВЗК оказались показатели, связанные с изменением заряда (скорость поступательного движения к электродам, дипольный момент), структурой мембран (электропроводность, емкость мембран, измененный характер поверхности) и энергетическим обменом эритроцитов (степень деформации). Вероятно, эти параме-

тры первыми реагируют на изменения, связанные с развитием рецидива заболевания. Заряд эритроцитов существенно модифицируется при изменении содержания воспалительных белков, соотношения альбуминов и глобулинов в сыворотке крови, что наблюдается на ранних этапах обострения и может быть его предиктором до развертывания клинических, эндоскопических признаков [27]. Рассмотрение С-реактивного белка в качестве предиктора рецидива косвенно подтверждает эту точку зрения.

Изменения структуры мембран эритроцитов с последующим снижением их поверхностного электрического заряда сопряжены со сдвигами содержания как фосфолипидных фракций и холестерина, так их составляющих – жирных кислот [7]. Последние тесно ассоциированы с паттерном цитокинов, гормонов, связанных с активацией воспаления [28, 29].

Преобладающее число мембранно-связанных ферментов, включая Mg^{2+} -зависимую Na^+/K^+ -АТФазу мембран эритроцитов, являются вискозизависимыми, т.е. их активность во многом определяется липидным окружением [30]. Активация перекисного окисления липидов, арахидонового цикла в мембранах приводит к истоще-

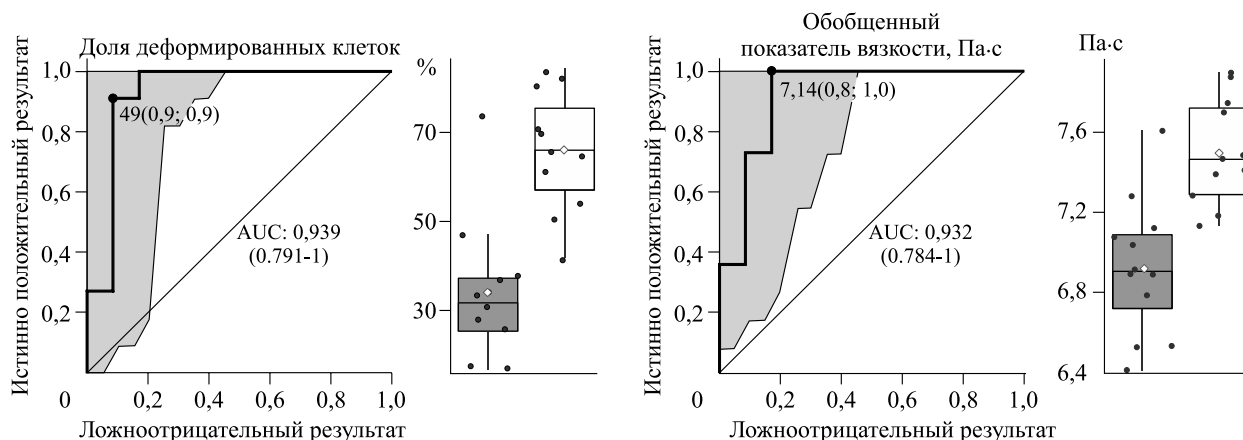


Рис. 8. ROC-кривые для доли деформированных клеток и обобщенного показателя вязкости, уровни значений показателей при обострении и ремиссии

Fig. 8. ROC curves for the proportion of deformed cells and the summarized viscosity, the levels of values of indicators during exacerbation and remission

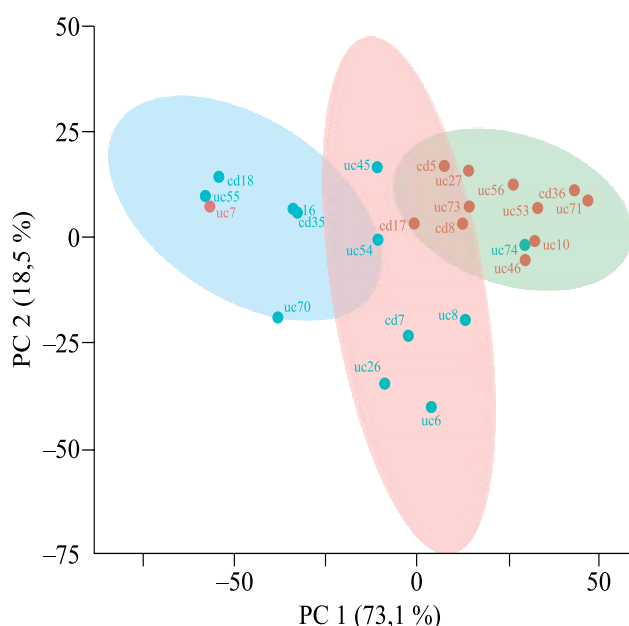


Рис. 9. Кластерный анализ электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов – предикторов обострения у пациентов с ВЗК, обследованных в динамике

Fig. 9. K-means clustering of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes – predictors of exacerbation in patients with IBD, examined over time

нию запасов АТФ внутри клетки со снижением способности к деформации [31].

Вероятно, изменения параметров эритроцитов, выявляемые методом диэлектрофореза, происходят гораздо раньше, чем сдвиги показателей обострения, доступных к измерению в рутинной

клинической практике [9]. Вместе с тем в литературе имеются данные, что некоторые традиционно используемые показатели эритроцитов могут служить предикторами ухудшения течения заболевания. Так, исследование параметров клеток красной крови в динамике у беременных женщин позволило выявить снижение концентрации гемоглобина в эритроците и увеличение среднего объема клеток за месяц до развития гестоза [32].

Изучение параметров эритроцитов, претендующих на роль маркеров обострения, на втором этапе было проведено в группе пациентов с ВЗК ($n = 36$), которые находились в стадии ремиссии. Гипотеза состояла в том, что параметры эритроцитов больных, находящихся в состоянии ремиссии, могут отличаться, что и предскажет грядущее обострение. Поскольку состояние ремиссии у обследованных длилось от 6 до 12 месяцев, изменения показателей клеток красной крови не могли быть связаны с предшествующей активностью заболевания. Применение кластерного анализа позволило выделить три основные группы пациентов с ВЗК по уровню параметров эритроцитов. За течением заболевания в каждой из групп проводилось годовое наблюдение. Установлено, что у большей части больных с максимально измененными параметрами эритроцитов развилось обострение в достаточно короткие сроки – от 2,5 до 4,5 месяца, «пограничные» величины параметров эритроцитов предполагали более отдаленные сроки наступления обострения (4–6 месяцев) и, наконец, минимально измененные были ассоциированы с развитием активности ВЗК через 8–12 месяцев или с сохранением ремиссии. Из полученных данных следует, что установленные в ка-

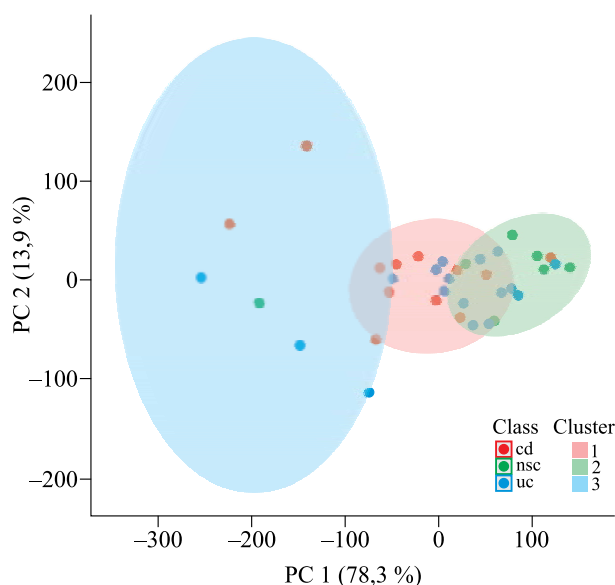


Рис. 10. Кластерный анализ электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов – предикторов обострения у пациентов с ВЗК в стадии ремиссии ($n = 36$). Зеленое, розовое и голубое облако – соответственно кластеры пациентов с ВЗК в стадии ремиссии с минимально измененными, промежуточными и максимально измененными величинами параметров эритроцитов. Красные, синие и зеленые точки – соответственно пациенты с БК, ЯК и НКК

Fig. 10. Cluster analysis (K-means clustering) of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes – predictors of exacerbation in patients with IBD in remission ($n = 36$). Green, pink and blue cloud – a cluster of patients with IBD in remission with minimally changed, intermediate and most altered erythrocyte parameters, respectively. Red, blue and green dots are Crohn's disease, ulcerative colitis and unclassified colitis patients, respectively

честве предикторов обострения показатели эритроцитов могут не только предсказать развитие активности ВЗК, но и стратифицировать ее риск.

Предложенный подход – использовать параметры эритроцитов для прогнозирования течения заболевания – не нов. 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 [33], величина омега-3 индекса мембран эритроцитов дает стратификацию риска развития внезапной коронарной смерти [34], острого инфаркта миокарда [35, 36]; в неврологии микро-РНК эри-

троцитов рассматриваются как потенциальный биомаркер течения рассеянного склероза [37]; проведен анализ уровня RDW для прогноза течения колоректального рака [38]. Настоящая работа, находясь в тренде подобных исследований, демонстрирует возможности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, измеренных методом диэлектрофореза, отличающегося минимальной пробоподготовкой, высокой скоростью выполнения, малой затратностью и трудоемкостью, высокой информативностью и наглядностью [9].

Таким образом, выявлены электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов, являющиеся предикторами обострения ВЗК: увеличение доли деформированных клеток, измененный характер поверхности эритроцитов, повышенная электропроводность мембран, сниженные дипольный момент, скорость поступательного движения эритроцитов к электродам (парный и непарный методы Volcano plot), а также сниженные степень изменения амплитуды деформации на частоте 5×10^5 Гц ($p = 0,009$) и емкость мембран эритроцитов ($p = 0,029$) (непарный метод Volcano plot).

Установлена высокая диагностическая точность как предикторов обострения ВЗК следующих показателей: доля деформированных клеток (AUC 0,939), обобщенный показатель вязкости (AUC 0,932). Кластерный анализ данных параметров подтвердил их прогностический потенциал в сроки от 1 до 3,5 месяца. Кластерный анализ значений параметров эритроцитов – предикторов обострения, выполненный у пациентов с ВЗК в стадии ремиссии, позволил провести стратификацию риска развития обострения: при их максимальных изменениях – развитие обострения через 2,5–4,5 месяца, промежуточных значениях – через 4–6 месяцев, минимальных изменениях – через 8–12 месяцев (предсказательная точность 92 %).

Список литературы / References

1. Головенко О.В., Хомерики С.Г., Иванова Е.В., Федоров Е.Д., Головенко А.О. Воспалительные заболевания кишечника. Клинические, эндоскопические, морфологические аспекты диагностики. Принципы современной терапии. М.: Прима Принт, 2017. 180 с.
2. Golovenko O.V., Khomeriki S.G., Ivanova E.V., Fedorov E.D., Golovenko A.O. Inflammatory bowel disease. Clinical, endoscopic, morphological aspects of diagnostics. Principles of modern therapy. Moscow: Prima Print, 2017. 180 p. [In Russian].
3. Boirivant M., Leoni M., Tariciotti D., Fais S., Squarcia O., Pallone F. The clinical significance of serum C

active protein levels in Crohn's disease. Results of a prospective longitudinal study. *J. Clin. Gastroenterol.* 1988; 10: 401–405. doi: 10.1097/00004836-198808000-00011

3. Gisbert J.P., Bermejo F., Perez-Calle J.L., Taxonera C., Vera I., McNicholl A.G., Algaba A., Lopez P., Lopez-Palacios N., Calvo M., Gonzalez-Lama Y., Carneros J.A., Velasco M., Mate J. Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm. Bowel Dis.* 2009; 15: 1190–1198. doi: 10.1002/ibd.20933

4. Chen P., Zhou G., Lin J., Li L., Zeng Z., Chen M., Zhang S. Serum biomarkers for inflammatory bowel disease. *Front. Med. (Lausanne).* 2020; 7: 123. doi:10.3389/fmed.2020.00123

5. Joossens S., Colombel J.F., Landers C., Poullain D., Geboes K., Bossuyt X., Targan S., Rutgeerts P., Reinisch W. Anti-outer membrane of porin C and anti-I2 antibodies in indeterminate colitis. *Gut.* 2006; 55: 1667–1669. doi: 10.1136/gut.2005.089623

6. Long W.Y., Chen L., Zhang C.L., Nong R.-M., Lin M.-J., Zhan L.-L., Lv X.-P. Association between NOD2/CARD15 gene polymorphisms and Crohn's disease in Chinese Zhuang patients. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20 (16): 4737–4744. doi: 10.3748/wjg.v20.i16.4737

7. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004. 202 с.

Novitskiy V.V., Ryazantseva N.V., Stepovaya E.A. Physiology and pathophysiology of erythrocyte. Tomsk: Publishing House of Tomsk University, 2004. 202 p. [In Russian].

8. Dupire J., Socol M., Viallat A. Full dynamics of a red blood cell in shear flow. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109 (51): 20808–20813. doi: 10.1073/pnas.1210236109

9. Генералов В.М., Кручинина М.В., Дурьманов А.Г., Медведев А.А., Сафатов А.С., Сергеев А.Н., Буряк Г.А., Курилович С.А., Громов А.А. Диэлектрофорез в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний. Новосибирск: ЦЭРИС, 2011. 172 с.

Generalov V.M., Kruchinina M.V., Durymanov A.G., Medvedev A.A., Safatov A.S., Sergeev A.N., Buryak G.A., Kurilovich S.A., Gromov A.A. Dielectrophoresis in the diagnosis of infectious and non-infectious diseases. Novosibirsk: TSERIS, 2011. 172 p. [In Russian].

10. Breiman L. Random Forests. *Machine Learning.* 2001; 45: 5–32. doi: 10.1023/A:1010933404324

11. Amre D.K., Lu S.E., Costea F., Seidman E.G. Utility of serological markers in predicting the early occurrence of complications and surgery in pediatric Crohn's disease patients. *Am. J. Gastroenterol.* 2006; 101: 645–652. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00468.x

12. Dubinsky M.C., Lin Y.C., Dutridge D., Picornell Y., Landers C.J., Farrior S., Wrobel I., Quiros A., Vasiliasukas E.A., Grill B., Israel D., Bahar R., Chris-

tie D., Wahbeh G., Silber G., Dallazadeh S., Shah P., Thomas D., Kelts D., Hershberg R.M., Elson C.O., Targan S.R., Taylor K.D., Rotter J.I., Yang H., Western Regional Pediatric IBD Research Alliance. Serum immune responses predict rapid disease progression among children with Crohn's disease: immune responses predict disease progression. *Am. J. Gastroenterol.* 2006; 101: 360–367. doi: 10.1111/j.1572-0241.2006.00456.x

13. Dubinsky M.C., Kugathasan S., Mei L., Picornell Y., Nebel J., Wrobel I., Quiros A., Silber G., Wahbeh G., Katzir L., Vasiliasukas E., Bahar R., Otley A., Mack D., Evans J., Rosh J., Hemker M.O., Leleiko N., Crandall W., Langton C., Landers C., Taylor K.D., Targan S.R., Rotter J.I., Markowitz J., Hyams J. Increased immune reactivity predicts aggressive complicating Crohn's disease in children. Clinical gastroenterology and hepatology: the official clinical practice. *J. Am. Gastroenterol. Assoc.* 2008; 6: 1105–1111. doi: 10.1016/j.cgh.2008.04.032

14. Costa F., Mumolo M.G., Ceccarelli L., Bellini M., Romano M.R., Sterpi C., Ricchiuti A., Marchi S., Bottai M. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. *Gut.* 2005; 54: 364–368. doi: 10.1136/gut.2004.043406

15. Tibble J.A., Sigthorsson G., Bridger S., Fagerhol M.K., Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology.* 2000; 119: 15–22. doi: 10.1053/gast.2000.8523

16. Labaere D., Smismans A., Van Olmen A., Christiaens P., D'Haens G., Moons V., Cuyle P.-J., Frans J., Bossuyt P. Comparison of six different calprotectin assays for the assessment of inflammatory bowel disease. *United Eur. Gastroenterol. J.* 2014; 2: 30–37. doi: 10.1177/2050640613518201

17. Calafat M., Cabre E., Manosa M., Lobatón T., Marín L., Domènech E. High within-day variability of fecal calprotectin levels in patients with active ulcerative colitis: what is the best timing for stool sampling? *Inflamm. Bowel Dis.* 2015; 21: 1072–1076. doi: 10.1097/MIB.0000000000000349

18. D'Inca R., Dal Pont E., di Leo V., Benazzato L., Martinato M., Lamboglia F., Oliva L., Sturmiolo G.C. Can calprotectin predict relapse risk in inflammatory bowel disease? *Am. J. Gastroenterol.* 2008; 103: 2007–2014. doi: 10.1111/j.1572-0241.2008.01870.x

19. Sipponen T., Kolho K.L. Faecal calprotectin in children with clinically quiescent inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 2010; 45: 872–877. doi: 10.3109/00365521003782389

20. Walkiewicz D., Werlin S.L., Fish D., Scanlon M., Hanaway P., Kugathasan S. Fecal calprotectin is useful in predicting disease relapse in pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 2008; 14: 669–673. doi: 10.1002/ibd.20376

21. Consigny Y., Modigliani R., Colombel J.F., Dupas J.L., Lemann M., Mary J.Y., Groupe d'Etudes Thérapeutiques des Affections Inflammatoires Diges-

tives (GETAID). A simple biological score for predicting low risk of short-term relapse in Crohn's disease. *Inflamm. Bowel Dis.* 2006; 12: 551–557. doi: 10.1097/01.ibd.0000225334.60990.5b

22. Brignola C., Campieri M., Bazzocchi G., Farruggia P., Tragnone A., Lanfranchi G.A. A laboratory index for predicting relapse in asymptomatic patients with Crohn's disease. *Gastroenterology.* 1986; 91: 1490–1494. doi: 10.1016/0016-5085(86)90206-4

23. Bitton A., Peppercorn M.A., Antonioli D.A., Niles J.L., Shah S., Bousvaros A., Ransil B., Wild G., Cohen A., Edwardes M.D., Stevens A.C. Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis. *Gastroenterology.* 2001; 120 (1): 13–20. doi: 10.1053/gast.2001.20912

24. Клинические рекомендации «Язвенный колит» (утв. Минздравом России). Режим доступа: <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-iazvennyi-kolit-utv-minzdravom-rossii/>

Clinical guidelines «Ulcerative colitis» (approved by the Minzdrav of Russia). Available at: <https://legalacts.ru/doc/klinicheskie-rekomendatsii-iazvennyi-kolit-utv-minzdravom-rossii/> [In Russian].

25. Клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Крона у взрослых (Проект). *Колонпроктология.* 2020; 19 (2): 8–38. doi: 10.33878/2073–7556–2020–19–2–8–38

Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of Crohn's disease in adults (Draft). *Kolonproktologiya = Coloproctology.* 2020; 19 (2): 8–38. [In Russian]. doi: 10.33878 / 2073–7556–2020–19–2–8–38

26. Katsaros M., Paschos P., Giouleme O. Red cell distribution width as a marker of activity in inflammatory bowel disease: a narrative review. *Ann. Gastroenterol.* 2020; 33 (4): 348–354. doi: 10.20524/aog.2020.0486

27. Шиффман Ф.Дж. Патофизиология крови. М.; СПб.: БИНОМ–Невский диалог, 2000. 448 с.

Schiffman F.J. Pathophysiology of blood. Moscow – Saint-Petersburg: BINOM Publishing House–Nevsky Dialogue, 2000. 448 p. [In Russian].

28. Scoville E.A., Allaman M.M., Adams D.W., Motley A.K., Peyton S.C., Ferguson S.L., Horst S.N., Williams C.S., Beaulieu D.B., Schwartz D.A., Wilson K.T., Coburn L.A. Serum polyunsaturated fatty acids correlate with serum cytokines and clinical disease activity in Crohn's disease. *Sci. Rep.* 2019; 9 (1): 2882. doi: 10.1038/s41598-019-39232-z

29. Wiese D.M., Horst S.N., Brown C.T., Allaman M.M., Hodges M.E., Slaughter J.C., Druce J.P., Beaulieu D.B., Schwartz D.A., Wilson K.T., Coburn L.A. Serum fatty acids are correlated with inflammatory cytokines in ulcerative colitis. *PLoS ONE.* 2016; 11 (5): e0156387. doi: 10.1371/journal.pone.0156387

30. Gatto C., Milanick M. Red blood cell Na pump: Insights from species differences. *Blood Cells. Mol. Dis.* 2009; 42 (3): 192–200. doi: 10.1016/j.bcmd.2009.01.011

31. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты. *Успехи физиол. наук.* 2001; 30 (3): 66–76.

Zinchuk V.V. Deformability of erythrocytes: physiological aspects. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk = Advances in Physiological Sciences.* 2001; 30 (3): 66–76. [In Russian].

32. Михайленко Е.Г., Василенко Л.В. Прогнозирование вероятности развития гестозов. *Акушерство и гинекол.* 1991; 6: 10–13.

Mikhailenko E.G., Vasilenko L.V. Predicting the likelihood of developing gestosis. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology.* 1991; 6: 10–13. [In Russian].

33. Uyarel H., Ergelen M., Cicek G., Kaya M.G., Ayhan E., Turkkan C., Yildirim E., Kirbas V., Onturk E.T., Erer H.B., Yesilcimen K., Gibson C.M. Red cell distribution width as a novel prognostic marker in patients undergoing primary angioplasty for acute myocardial infarction. *Coron. Artery Dis.* 2011; 22 (3): 138–144. doi: 10.1097/MCA.0b013e328342c77b

34. von Schacky C. Omega-3 Index and sudden cardiac death. *Nutrients.* 2010; 2 (3): 375–388. doi: 10.3390/nu2030375

35. Salisbury A.C., Amin A.P., Harris W.S., Chan P.S., Gosch K.L., Rich M.W., O'Keefe J.H.Jr, Spertus J.A. Predictors of omega-3 index in patients with acute myocardial infarction. *Mayo Clinic. Proc.* 2011; 86 (7): 626–632. doi: 10.4065/mcp.2011.0005

36. Harris W.S., Kennedy K.F., O'Keefe J.H.Jr, Spertus J.A. Red blood cell fatty acid levels improve GRACE score prediction of 2-yr mortality in patients with myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 2013; 168 (1): 53–59. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.09.076

37. Groen K., Maltby V.E., Scott R.J., Tajouri L., Lechner-Scott J. Erythrocyte microRNAs show biomarker potential and implicate multiple sclerosis susceptibility genes. *Clin. Transl. Med.* 2020; 10 (1): 74–90. doi: 10.1002/ctm2.22

38. Pedrazzani C., Tripepi M., Turri G., Fernandes E., Scotton G., Conci S., Campagnaro T., Ruzzenente A., Guglielmi A. Prognostic value of red cell distribution width (RDW) in colorectal cancer. Results from a single-center cohort on 591 patients. *Sci. Rep.* 2020; 10 (1): 1072. doi: 10.1038/s41598-020-57721-4

Сведения об авторах:

Маргарита Витальевна Кручинина, д.м.н., ORCID: 0000-0003-0077-3823, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Ирина Олеговна Светлова, к.м.н., e-mail: iosvetlova@yandex.ru

Александра Викторовна Азгалдян, e-mail: communis2016@gmail.com

Андрей Александрович Громов, к.м.н., e-mail: gromov.center@rambler.ru

Владимир Михайлович Генералов, д.т.н., ORCID: 0000-0001-7544-187X, e-mail: vmgeneral@mail.ru

Ирина Николаевна Яковина, к.т.н., e-mail: i1i2i3@bk.ru

Александр Александрович Шестов, к.х.н., e-mail: ashestov@gmail.com

Information about the authors:

Margarita V. Kruchinina, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0077-3823, e-mail: kruchmargo@yandex.ru

Irina O. Svetlova, candidate of medical sciences, e-mail: iosvetlova@yandex.ru

Alexandra V. Azgaldyan, e-mail: communis2016@gmail.com

Andrey A. Gromov, candidate of medical sciences, e-mail: gromov.center@rambler.ru

Vladimir M. Generalov, doctor of technical sciences, ORCID: 0000-0001-7544-187X, e-mail: vmgeneral@mail.ru

Irina N. Yakovina, candidate of technical sciences, e-mail: i1i2i3@bk.ru

Alexander A. Shestov, candidate of chemical sciences, e-mail: ashestov@gmail.com

Поступила в редакцию 22.07.2021

Принята к публикации 19.09.2021

Received 22.07.2021

Accepted 19.09.2021