

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-190-6-40-49>

Способ диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника, основанный на совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровне фекального кальпротектина

Кручинина М.В.^{1,2}, Светлова И.О.^{1,2}, Азгалдян А.В.¹, Осипенко М.Ф.², Валуйских Е.Ю.², Громов А.А.¹, Генералов В.М.³, Кручинин В.Н.⁴, Яковина И.Н.⁵, Осипенко И.В.⁵

¹ 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», ул. Бориса Богаткова, 175/1, Новосибирск, 630089, Россия

² ФГБОУ Новосибирский государственный медицинский университет, Минздрава России, Красный проспект, 52, Новосибирск, 630091, Россия

³ Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, рабочий поселок Кольцово, Новосибирская область, 630559, Россия

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физики полупроводников им. А.В. Ржанова Сибирского отделения Российской академии наук, Проспект Академика Лаврентьева, 13, Новосибирск, 630090, Россия

⁵ Новосибирский Государственный Технический Университет, проспект Карла Маркса, 20, Новосибирск, 630073, Россия

Для цитирования: Кручинина М.В., Светлова И.О., Азгалдян А.В., Осипенко М.Ф., Валуйских Е.Ю., Громов А.А., Генералов В.М., Кручинин В.Н., Яковина И.Н., Осипенко И.В. Способ диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника, основанный на совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровне фекального кальпротектина. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2021;190(6): 40–49. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-190-6-40-49

✉ Для переписки:

**Кручинина
Маргарита Витальевна**
kruchmargo@yandex.ru

Кручинина Маргарита Витальевна, д.м.н.; ведущий научный сотрудник лаборатории гастроэнтерологии; доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней

Светлова Ирина Олеговна, к.м.н., доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации и переподготовки врачей

Азгалдян Александра Викторовна, аспирант лаборатории гастроэнтерологии

Осипенко Марина Федоровна, д.м.н., профессор; заведующая кафедрой пропедевтики внутренних болезней

Валуйских Екатерина Юрьевна, к.м.н., доцент кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации и переподготовки врачей

Громов Андрей Александрович, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний

Генералов Владимир Михайлович, докт. техн. наук; ведущий научный сотрудник отдела биофизики и экологических исследований

Кручинин Владимир Николаевич, канд. хим. наук; старший научный сотрудник лаборатории эллипсомерии

Яковина Ирина Николаевна, канд. техн. наук; доцент кафедры вычислительной техники

Осипенко Иван Викторович, ассистент кафедры вычислительной техники

Резюме

Цель работы: представление способа диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника на основе совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина.

Материалы и методы. Обследовано 109 пациентов (37,7±11,7 года) с ВЗК (50 человек — с язвенным колитом, 41 — с болезнью Крона, 18 пациентов с неклассифицированным колитом), из них 36 пациентов обследованы в динамике в течение 0,5–1 года, и 53 обследуемых группы сравнения. С учетом наблюдения в динамике в 109 случаях установлено наличие обострения ВЗК и в 36 случаях — ремиссия заболеваний. Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов исследованы методом диэлектрофореза. Уровень фекального кальпротектина определен методом ИФА (R-Biopharm, Германия).

Результаты. Установлены дифференцирующие значения для ряда параметров эритроцитов: среднего диаметра клетки, поляризуемости на частоте 10⁶ Гц, скорости поступательного движения к электродам, амплитуды деформации на частоте 10⁶ Гц, обобщенных показателей вязкости, жесткости, электропроводности, положения равновесной частоты и уровня фекального кальпротектина для различения пациентов с ВЗК в стадии обострения и ремиссии. Предложенный способ комбинированного использования параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина обеспечил достаточную диагностическую точность: чувствительность 91,9%, специфичность — 93,1%, индекс точности

92,3%. Преимуществами данного подхода являются малоинвазивность, высокая производительность, независимость определения от квалификации и опыта специалиста, малая затратность и трудоемкость, приемлемость для пациента. Данный подход позволяет установить наличие обострения или ремиссии независимо от нозологической формы ВЗК.

Заключение. Комбинированное использование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина перспективно для определения стадии заболевания у пациентов с ВЗК.

Ключевые слова: воспалительные заболевания кишечника, диагностика, способ, активность заболевания, эритроциты, диэлектрофорез, фекальный кальпротектин

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-190-6-40-49>



The method for diagnosing the activity of inflammatory bowel diseases based on a combination of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes and the level of fecal calprotectin

M. V. Kruchinina^{1,2}, I. O. Svetlova^{1,2}, A. V. Azgaldyan¹, M. F. Osipenko², E. Yu. Valuiskikh², A. A. Gromov¹, V. M. Generalov³, V. N. Kruchinin⁴, I. N. Yakovina⁵, I. V. Osipenko⁵

¹ Research Institute of Internal and Preventive Medicine — Branch of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Bogatkov str., 175/1, Novosibirsk, 630090, Russia

² Novosibirsk State Medical University, Krasnyi ave., 52, Novosibirsk, 630091, Russia

³ Federal Budgetary Research Institution «State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Koltsovo, 630559, Novosibirsk region, Russia

⁴ Rzhanov Institute of Semiconductor Physics SB RAS, Lavrentiev ave., 13, Novosibirsk, 630090, Russia

⁵ Novosibirsk State Technical University, Karl Marx ave., 20, Novosibirsk, 630073, Russia

For citation: Kruchinina M. V., Svetlova I. O., Azgaldyan A. V., Osipenko M. F., Valuiskikh E. Yu., Gromov A. A., Generalov V. M., Kruchinin V. N., Yakovina I. N., Osipenko I. V. The method for diagnosing the activity of inflammatory bowel diseases based on a combination of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes and the level of fecal calprotectin. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2021;190(6): 40–49. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-190-6-40-49

Margarita V. Kruchinina, MD; Leading researcher of Laboratory of Gastroenterology; Associate Professor of Department for Propaedeutics of Internal Medicine; ORCID: 0000–0003–0077–3823

Irina O. Svetlova, PhD; Associate Professor of Department for Therapy, Hematology and Transfusiology (Faculty of Continuing Education and Retraining of Doctors)

Alexandra V. Azgaldyan, Post Graduate Student of Laboratory of Gastroenterology

Marina F. Osipenko, MD, Professor; Head of the Department for Propaedeutics of Internal Medicine; ORCID: 000–0002–5156–2842

Ekaterina Yu. Valuiskikh, PhD; Associate Professor of Department for Therapy, Hematology and Transfusiology (Faculty of Continuing Education and Retraining of Doctors)

Andrey A. Gromov, PhD, Senior researcher of Laboratory of Clinical Biochemical and Hormonal Studies on Internal Diseases

Vladimir M. Generalov, MD; Leading researcher of Department of Biophysics and Ecological Research, ORCID: 0000–0001–7544–187X

Vladimir N. Kruchinin, PhD; Researcher of laboratory of Ellipsometry, ORCID: 0000–0002–9905–9031

Irina N. Yakovina, PhD, Associate Professor of Department of Computing Engineering

Ivan V. Osipenko, Assistant of the Department of Computer Science

✉ **Corresponding author:**

Margarita V. Kruchinina
kruchmargo@yandex.ru

Summary

Purpose of the work: to present a method for diagnosing the activity of inflammatory bowel diseases based on a combination of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes and the level of fecal calprotectin.

Materials and methods. We examined 109 patients (37.7±11.7 years) with IBD (50 with ulcerative colitis, 41 with Crohn's disease, 18 patients with unclassified colitis), of which 36 patients were examined in dynamics for 0.5–1 years, and 53 surveyed comparison groups. Taking into account the observation in dynamics in 109 cases, the presence of exacerbation of IBD was established and in 36 cases — remission of the diseases. The electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes were studied by dielectrophoresis. The level of fecal calprotectin was determined by ELISA (R-Biopharm, Germany).

Results. Differentiating values have been established for a number of erythrocyte parameters: average cell diameter, polarizability at a frequency of 10^6 Hz, the velocity of movement of cells towards electrodes, amplitude of erythrocyte deformation at a frequency of 10^6 Hz, the summarized indicators of rigidity, viscosity, electrical conductivity, position of the crossover frequency and the level of fecal calprotectin to distinguish patients with IBD in stages of exacerbation and remission. The proposed method for the combined use of erythrocyte parameters and the level of fecal calprotectin provided sufficient diagnostic accuracy: sensitivity 91.9%, specificity 93.1%, accuracy index 92.3%. The advantages of this approach are minimally invasiveness, high productivity, independence of the definition from the qualifications and experience of a specialist, low cost and labor intensity, and acceptability for the patient. This approach allows to establish the presence of exacerbation or remission, regardless of the nosological form of IBD.

Conclusion. The combined use of electrical and viscoelastic parameters of erythrocytes and the level of fecal calprotectin is promising for determining the activity of the disease in patients with IBD.

Keywords: inflammatory bowel disease, diagnosis, method, activity of the disease, erythrocytes, dielectrophoresis, fecal calprotectin

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

Введение

При верификации диагноза воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) одной из важных рубрик является тяжесть настоящей атаки заболевания, которая соответствует понятию «активность» в зарубежной практике. Все системы оценки тяжести атаки называются индексами активности. Термины «клиническая активность» и «тяжесть обострения» эквивалентны, неактивный процесс соответствует ремиссии заболевания. Данный аспект является весьма важным, поскольку он определяет тактику лечения пациента [1, 2].

Для определения тяжести атаки при язвенном колите (ЯК) используют критерии Truelove-Witts [3], индекс активности ЯК (индекс клиники Мейо) [1], которые предполагают необходимость проведения физикального, исследования показателей красной крови, эндоскопического, 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 [4] 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) [5] предполагает необходимость в специальном оборудовании, реактивах, обученных специалистах.

Для определения тяжести текущего обострения при болезни Крона (БК) используются критерии, разработанные Обществом по изучению ВЗК [6], предполагающие оценку клинических проявлений и ряда маркеров воспаления [5]; индекс Харви-Брэшоу [7], 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 [8]; CDAI) включает оценку ряда клинических аспектов, данных объективного обследования,

приема антидиарейных препаратов, уровня гемокрита 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) [9] предполагает детализацию эндоскопической картины без учета клинических, биохимических данных.

Следует заметить, что клиническая, биохимическая, эндоскопическая, гистологическая активности могут не соответствовать друг другу, что вызывает затруднения в оценке стадии заболевания конкретного пациента [10]. Однозначных диагностических критериев БК, ЯК не существует, диагноз выставляется на основании сочетания данных анамнеза, клинической картины и типичных эндоскопических и гистологических изменений [1, 2].

Синдром эндотоксемии, метаболические расстройства, ассоциированные с ВЗК, сопровождаются изменениями параметров клеток красной крови [1, 2]. В ряде исследований продемонстрированы возможности использования показателей эритроцитов для диагностики ВЗК [11, 12].

Для диагностики активности ВЗК используются биомаркеры, в том числе, фекальный кальпротектин – белок, являющийся продуктом нейтрофильных гранулоцитов, обнаружение которых в кале указывает на воспаление стенки кишки. Исследование данного показателя позволяет исключить функциональные нарушения в кишке, оценить наличие, степень распространенности и воспаления слизистой оболочки кишечника, контролировать реакцию на терапию [13]. Исследования показали, что кальпротектин может предсказывать активность заболевания, демонстрируя чувствительность от 70 до 100% и специфичность от 44 до 100%, в зависимости от значения точки разделения уровня данного показателя [14]. Чувствительность фекального кальпротектина выше при заболевании толстой кишки по сравнению с поражением подвздошной кишки [15] и больше зависит от эндоскопической активности,

чем от степени тяжести заболевания. Последние данные свидетельствуют о том, что фекальный кальпротектин более тесно коррелирует с эндоскопической картиной и оценкой симптомов при ЯК, чем при БК, даже при исключении пациентов с локализацией процесса только в подвздошной кишке при БК [16].

Несмотря на масштабные попытки исследований ВЗК, проведение ранней диагностики по-прежнему является сложной задачей, отсутствуют биомаркеры для быстрого и точного дифференцирования пациен-

тов ВЗК с точки зрения статуса заболевания (активный и неактивный) и нозологических форм (болезнь Крона и ЯК) [17,18]. Поэтому поиск новых способов и подходов к диагностике воспалительных заболеваний кишечника продолжает оставаться актуальной задачей.

Цель настоящего исследования: представление способа диагностики активности воспалительных заболеваний кишечника на основе совокупности электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина.

Материалы и методы

Обследовано 109 пациентов (средний возраст $37,7 \pm 11,7$ года, 59 женщин, 50 мужчин) с ВЗК и 53 обследуемых группы сравнения (средний возраст – $43,3 \pm 11,7$ года, 28 женщин, 25 мужчин). Группа пациентов с ВЗК включала в себя больных с язвенным колитом – 50 человек, с болезнью Крона – 41 человек и 18 пациентов с неклассифицированным колитом. Диагноз был верифицирован на основании сочетания данных анамнеза, клинической картины и типичных эндоскопических и гистологических изменений [3,15].

Среди пациентов с ВЗК 86 обследуемых находились в состоянии обострения заболевания, 23 – в стадии ремиссии. В последующие 0,5–1 года 36 пациентов было обследовано в динамике наблюдения, на момент повторного обследования у 23 больных выявлено заболевание в активном статусе, у 13 – в неактивном. Таким образом, в совокупности (первое и второе обследование) удалось провести исследование для 109 случаев обострения ВЗК и 36 случаев ремиссии заболеваний.

Группу сравнения составили практически здоровые обследуемые, ведущие здоровый образ жизни и употребляющие алкоголь не чаще 1–2 раза в месяц в малых дозах (не более 20 г для женщин и 40 г в сутки в пересчете на чистый этанол), у которых при клиническом, лабораторном и инструментальном обследовании не выявлено признаков манифестирующих заболеваний внутренних органов.

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 пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Для проведения исследования эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) клетки красной крови получали из цельной крови пациентов, взятой из вены. Подробно методика описана в монографии [19]. Оценивали средний диаметр эритроцита [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 компьютерной обработки данных использовался пакет оригинальных программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода – 7–12%.

Уровень фекального кальпротектина определен методом иммуно-ферментного анализа (R-Biopharm, Германия).

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы SPSS, ver. 17. Определялся характер распределения количественных признаков методом Колмогорова-Смирнова. В случае нормального распределения вычислялось среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD). Достоверность различия показателей оценивали по критериям Стьюдента, Пирсона (при нормальном распределении), в случаях отклонения распределения от нормального использовались непараметрические критерии (U-критерий Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова, Краскела-Уоллиса). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимался равным 0,05.

Результаты

При исследовании электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов у пациентов с ВЗК в активной и неактивной стадии (таблица 1) 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 здоровых лиц и больных

в стадии ремиссии ($p < 0,0001$). 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 ($p < 0,00001$ – $0,0001$).

Индексы агрегации, деструкции в стадии обострения ВЗК имели тенденцию к повышению, но

Таблица 1

Электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов пациентов с активными и неактивными ВЗК и лиц группы сравнения ($M \pm SD$)

Показатели	Группа сравнения, n = 53 (1)	Группа пациентов с активными ВЗК n = 109 (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	7,20 ± 0,11	7,41 ± 0,10	p1-2 0,00001 p1-3 0,00001 p2-3 0,0001	0,00001
Доля дискоцитов, %	74,3 ± 8,19	54,30 ± 18,14	67,22 ± 15,02	p1-2 0,00001 p1-3 0,0006 p2-3 0,017	0,00001
Доля сфероцитов, %	18,83 ± 6,64	40,38 ± 17,87	25,69 ± 15,42	p1-2 0,00001 p1-3 0,004 p1-4 0,00008	0,00001
Доля деформированных клеток, %	19,98 ± 7,34	61,56 ± 15,51	36,50 ± 17,60	p1-2 0,00001 p1-3 0,00001 p1-4 0,00001	0,00001
Измененный характер поверхности Ег (условный коэффициент)	1,08 ± 0,27	1,78 ± 0,42	1,28 ± 0,45	p1-2 0,00001 p2-3 0,0001	0,00001
Амплитуда деформации [м] на частоте 10 ⁶ Гц	8,15·10 ⁻⁶ ± 0,65·10 ⁻⁶	6,13·10 ⁻⁶ ± 0,50·10 ⁻⁶	6,69·10 ⁻⁶ ± 0,40·10 ⁻⁶	p1-2 0,00001 p1-3 0,00001 p2-3 0,0006	0,00001
Степень изменения амплитуды деформации на частоте 0,5 × 10 ⁶ Гц, %	75,38 ± 7,17	49,34 ± 10,49	60,50 ± 9,08	p1-2 0,00001 p1-3 0,00001 p2-3 0,0001	0,00001
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	6,49·10 ⁻⁶ ± 0,9·10 ⁻⁶	9,53·10 ⁻⁶ ± 0,48·10 ⁻⁶	8,90·10 ⁻⁶ ± 0,57·10 ⁻⁶	p1-2 0,00001 p1-3 0,00001 p2-3 0,0001 p3-4 0,03	0,00001
Обобщенный показатель вязкости, Па·с	0,57 ± 0,07	0,743 ± 0,031	0,703 ± 0,031	p1-2 0,00001 p1-3 0,00001 p2-3 0,021	0,00001
Индекс агрегации Ег, усл. ед.	0,40 ± 0,2	0,70 ± 0,5	0,60 ± 0,2	p > 0,1	0,7865
Индекс деструкции Ег [%] при 10 ⁶ Гц	0,11 ± 0,45	0,67 ± 1,43	0,17 ± 0,58	p > 0,1	0,0242
Индекс деструкции Ег [%] при 0,5 × 10 ⁶ Гц	0,11 ± 0,34	0,66 ± 1,42	0,17 ± 0,72	p > 0,1	0,0119
Индекс деструкции Ег [%] при 0,1 × 10 ⁶ Гц	0,04 ± 0,3	0,64 ± 1,39	0,40 ± 0,93	p1-2 0,028	0,0023
Индекс деструкции Ег [%] при 0,05 × 10 ⁶ Гц	0,02 ± 0,15	0,70 ± 1,79	0,38 ± 0,88	p > 0,1	0,0211
Поляризуемость [м ³] на частоте 10 ⁶ Гц	6,58·10 ⁻¹⁵ ± 2,07·10 ⁻¹⁵	3,71·10 ⁻¹⁵ ± 0,29·10 ⁻¹⁵	5,40·10 ⁻¹⁵ ± 0,30·10 ⁻¹⁵	p1-2 0,00001 p1-3 0,00001 p2-3 0,0001	0,00001
Поляризуемость [м ³] на частоте 0,5 × 10 ⁶ Гц	4,76·10 ⁻¹⁵ ± 2,35·10 ⁻¹⁵	4,59·10 ⁻¹⁵ ± 2,84·10 ⁻¹⁵	4,97·10 ⁻¹⁵ ± 2,71·10 ⁻¹⁵	p > 0,1	0,4320
Поляризуемость [м ³] на частоте 0,1 × 10 ⁶ Гц	-3,59·10 ⁻¹⁵ ± 2,59·10 ⁻¹⁵	-4,78·10 ⁻¹⁵ ± 3,08·10 ⁻¹⁵	-4,06·10 ⁻¹⁵ ± 2,16·10 ⁻¹⁵	p1-2 0,0019	0,0098
Поляризуемость [м ³] на частоте 0,05 × 10 ⁶ Гц	-4,95·10 ⁻¹⁵ ± 2,12·10 ⁻¹⁵	-4,34·10 ⁻¹⁵ ± 3,28·10 ⁻¹⁵	-3,91·10 ⁻¹⁵ ± 2,17·10 ⁻¹⁵	p1-2 0,0006 p1-3 0,022	0,0016
Относительная поляризуемость	0,93 ± 0,33	1,19 ± 0,66	1,30 ± 0,62	p > 0,1	0,2320
Электропроводность, См/м	5,1·10 ⁻⁵ ± 0,54·10 ⁻⁵	7,69·10 ⁻⁵ ± 1,26·10 ⁻⁵	5,99·10 ⁻⁵ ± 0,92·10 ⁻⁵	p1-2 0,00001 p13 0,00001 p23 0,00001	0,00001
Емкость клеточной мембраны, Ф	7,26·10 ⁻¹⁴ ± 0,53·10 ⁻¹⁴	4,81·10 ⁻¹⁴ ± 3,58·10 ⁻¹⁴	6,99·10 ⁻¹⁴ ± 2,13·10 ⁻¹⁴	p1-2 0,0001 p1-3 0,092 p2-3 0,0035	0,0001
Скорость движения Ег к электродам, мкм/с	7,75 ± 1,07	3,71 ± 0,84	4,78 ± 0,81	p1-2 0,00001 p1-3 0,00001 p2-3 0,0001	0,00001
Равновесная частота, Гц	0,49·10 ⁶ ± 0,07·10 ⁶	1,14·10 ⁶ ± 1,44·10 ⁶	0,43·10 ⁶ ± 0,31·10 ⁶	p23 0,0039	0,0024
Дипольный момент, Кл·м	7,59·10 ⁻²¹ ± 0,99·10 ⁻²¹	4,21·10 ⁻²¹ ± 0,96·10 ⁻²¹	5,85·10 ⁻²¹ ± 1,05·10 ⁻²¹	p1-2 0,00001 p13 0,00001 p14 0,00001	0,00001

Группы	Средний диаметр эритроцита x_1 (Dcp), 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_p), 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 (A), м	Фекальный кальпротектин x_9 , мкг/г
Группа условно здоровых	$7,5 \cdot 10^{-6} \div 7,7 \cdot 10^{-6}$	$6,7 \div 8,8$	$6,3 \cdot 10^{-15} \div 7,5 \cdot 10^{-15}$	$4,6 \cdot 10^5 \div 5,6 \cdot 10^5$	$4,6 \cdot 10^{-5} \div 5,1 \cdot 10^{-5}$	$0,50 \div 0,64$	$5,6 \cdot 10^{-6} \div 9,1 \cdot 10^{-6}$	$7,5 \cdot 10^{-6} \div 8,8 \cdot 10^{-6}$	$2 \div 50$
Группа пациентов с активными ВЗК	$7,1 \cdot 10^{-6} \div 7,3 \cdot 10^{-6}$	$2,8 \div 3,9$	$3,4 \cdot 10^{-15} \div 4,0 \cdot 10^{-15}$	$9,7 \cdot 10^5 \div 12,8 \cdot 10^5$	$6,9 \cdot 10^{-5} \div 8,9 \cdot 10^{-5}$	$0,73 \div 0,77$	$9,5 \cdot 10^{-6} \div 10,0 \cdot 10^{-6}$	$5,6 \cdot 10^{-6} \div 6,3 \cdot 10^{-6}$	Более 200
Группа пациентов с неактивными ВЗК	$7,3 \cdot 10^{-6} \div 7,5 \cdot 10^{-6}$	$4,6 \div 5,6$	$5,1 \cdot 10^{-15} \div 5,7 \cdot 10^{-15}$	$3,9 \cdot 10^5 \div 4,2 \cdot 10^5$	$5,1 \cdot 10^{-5} \div 6,9 \cdot 10^{-5}$	$0,67 \div 0,71$	$8,3 \cdot 10^{-6} \div 9,1 \cdot 10^{-6}$	$6,3 \cdot 10^{-6} \div 7,1 \cdot 10^{-6}$	$51 \div 200$

Таблица 2. Дифференцирующие значения электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов, фекального кальпротектина для пациентов с ВЗК с разными стадиями заболевания и лиц группы сравнения

Примечание: Условные сокращения: ВЗК – воспалительные заболевания кишечника

уровня достоверности различия не достигали. Поляризуемость на всех частотах у пациентов с активными ВЗК оказалась ниже показателей в неактивной фазе и у здоровых лиц, 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 ($p = 0,0039$).

У лиц группы сравнения, пациентов с разными стадиями ВЗК определены значения фекального кальпротектина: у лиц группы сравнения его величины находились в пределах от 2 до 50 мкг/г, в стадию обострения ВЗК – более 20 мкг/г, в стадию ремиссии – от 51 до 200 мкг/г.

Из совокупности электрических и вязкоупругих показателей эритроцитов определены восемь параметров, которые обеспечили разделение между группами, определены их дифференцирующие значения (таблица 2).

Предложенный способ диагностики активности ВЗК основывается на определении следующих параметров эритроцитов с помощью метода диэлектрофореза [19] с использованием оригинальной вычислительной программы:

$x_1 = D_{cp} = (D_1 + D_2 + \dots + D_n)/n$ – средний диаметр эритроцита,
где D_1 – диаметр первой клетки; D_2 – диаметр второй клетки; D_n – диаметр n -й клетки; n – количество клеток.

$x_2 = \vec{v}_{кл} = S / t$ – скорость поступательного движения эритроцита в электрическом поле,
где S – расстояние, пройденное клеткой за время t .

$x_3 = a = 3 \frac{\pi \cdot \eta_{cp} \cdot v_{кл} \cdot D_{cp}}{|\nabla E^2|}$ – поляризуемость,

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

$x_4 = \omega_{p1} = (f_p)$ – равновесная частота.

$x_5 = \sigma = \frac{1}{R_{кл}} = \frac{1}{R_{cp}}$ – электропроводность эритроцита.

где $R_{кл}$ – сопротивление клетки; R_{cp} – сопротивление среды;

$x_6 = \eta_{кл} = - \frac{c_{кл} \cdot \tau_{и}}{6 \cdot \pi \cdot r_{кл} \cdot \ln|x_m|}$ – обобщенный показатель

вязкости эритроцита,

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.

$x_7 = c_{кл} = \frac{\alpha_{кл} \cdot \epsilon_o \cdot E^2}{2r_{кл} x_m}$ – обобщенный показатель жест-

кости клетки,

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_8 – амплитуда деформации клетки;

$x_9 = A = x_m = - \frac{D_{кл}^m - D_{кл}^0}{2}$ – максимальная амплитуда

деформации клетки,

где $D_{кл}^0$ – начальный диаметр клетки, до включения НПЭП; $D_{кл}^m$ – максимальный диаметр клетки при включенном НПЭП.

Затем сравнивают полученные данные конкретного пациента с соответствующими дифференцирующими значениями показателей эритроцитов, уровней фекального кальпротектина, определенными для групп пациентов с активными и неактивными ВЗК и при наличии 60% и более отличающихся параметров от группы условно здоровых

Таблица 3.

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 кальпротектина	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

обследуемых без патологий и входящих в границы значений, указанных в таблице 2, у больных диагностируют активное или неактивное воспалительное заболевание кишечника.

Диагностическая эффективность предлагаемого малоинвазивного способа определения наличия активности ВЗК и его пригодность подтверждается сравнением с результатами биохимических, инструментальных исследований. Обобщенный анализ данных исследования вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов в сочетании с уровнем фекального кальпротектина для определения активности ВЗК сравнивают с комплексными данными биохимических, инструментальных

исследований. Результаты оценки приведены в таблице 3. Исходя из полученных данных, по формулам, приведенным в [20], были получены следующие показатели: чувствительность заявленного способа составила 91,9%, специфичность – 93,1%, показатель прогностической ценности «+» результата (т.е. выявление случаев с активными ВЗК) – 96,6%, показатель прогностической ценности «–» результата – 84,3%, индекс точности составил 92,3%.

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

Обсуждение

Диагностика и наблюдение воспалительных заболеваний кишечника основаны на сочетании клинических показателей, лабораторных маркерах, эндоскопии, гистологии и методах визуализации [21, 22]. Однако они имеют различные недостатки, такие как низкая чувствительность и специфичность, высокая стоимость, ограниченная доступность, сложность выполнения, инвазивность, высокий риск осложнений и недостаточная воспроизводимость [23, 24]. Потребность в показателе, используемом для выявления и мониторинга степени активности заболевания при ВЗК, который может помочь преодолеть эти недостатки, все еще остается открытой. Биомаркеры, которые легко выявляются с помощью надежных и дешевых анализов, имеют очевидные преимущества для выявления активной стадии заболевания.

Показатели красной крови, как количество эритроцитов, уровень гемоглобина и СОЭ, широко используются в клинической практике для объективизации состояния пациента с ВЗК [1, 2]. 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 при ВЗК [1, 2].

В последние годы пристальное внимание исследователей приковано к показателю эритроцитов – ширине распределения клеток по объему. В перечне исследований показано, что данный маркер значительно коррелирует с активностью заболевания при ВЗК и может служить для дифференцирования болезни Крона от язвенного колита [25].

Возможности использования параметров эритроцитов для оценки степени воспаления определяются тесной связью клеток красной крови с маркерами воспаления [26]. Известно, что эритроциты способны адсорбировать на своей поверхности крупномолекулярные белки (включая фибриноген, С-реактивный белок, иммуноглобулины классов А, М и G), что приводит к существенной модификации структуры их мембран [27]. С одной стороны, это значительно изменяет поверхностный заряд клеток, «экранируя» нейраминовые кислоты, преимущественно определяющие его величину. 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. Уменьшение потенциала на мембране эритроцита приводит к нарушению взаимодействия между ее компонентами (фосфолипидами, эфирами холестерина, триглицеридами), усиливая процессы перекисного окисления [27, 28]. Следствием чего является повышенная способность 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.

Хроническое воспаление у пациентов с ВЗК вследствие воздействия цитокинов, а именно: интерлейкина-1, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли-альфа, интерферона гамма – может привести к нарушению выработки эритропоэтина, из-

менению продолжительности жизни эритроцитов, снижению чувствительности костного мозга к эритропоэтину и нарушению метаболизма железа, нормального процесса кроветворения [29, 30]. Данные литературы свидетельствуют о том, что анемия при ВЗК является многофакторной и рассматривается как комбинация железодефицитной анемии и анемии хронических заболеваний [31], обусловленной рядом негативных эффектов активированной иммунной системы на разных уровнях эритропоэза [32, 33]. Описано влияние провоспалительных цитокинов на величины поляризуемости клеток [34], которая определяет адаптационные возможности эритроцитов [19]. 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 [35,36].

По данным А. М. Oliveira с соавт. [37] 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.

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 [19]. Сочетание этих характеристик эритроцитов с уровнем фекального кальпротектина обеспечивает специфичность предложенного подхода для поражения кишки. В клинических условиях фекальный кальпротектин является надёжным маркером воспаления кишечника и, как было показано, коррелирует со степенью воспаления слизистой оболочки [38].

В клинической практике используется ряд воспалительных биомаркеров, позволяющих сделать вывод о наличии активности ВЗК. Среди них – С-реактивный белок – это белок острой фазы воспаления, вырабатываемый печенью в ответ на воспалительные цитокины, такие как интерлейкин-1 и интерлейкин-6. Исследование уровня СРБ доступно в повседневной клинической практике и недорого. Однако, его использование в качестве биомаркера ВЗК требует учета ряда обстоятельств. Уровень СРБ повышается у пациентов с другими воспалительными состояниями, не связанными с кишкой [39]. Выработка СРБ регулируется генетическими факторами: установлено, что у 20%

здоровых людей не наблюдается повышение СРБ при воспалении [40]. Уровень СРБ зависит от других, связанных с пациентом, факторов, влияние которых не до конца понятно; исследование пациентов с ранним ревматоидным артритом показало, что уровень СРБ зависит от возраста, пола и индекса массы тела [41]. Кроме того, СРБ повышается у большей доли пациентов с БК, чем с ЯК [42]. Эти факторы становятся важными, когда СРБ используется в качестве биомаркера для оценки стадии заболевания, поскольку нормальные уровни могут не коррелировать с отсутствием активности ВЗК.

Одним из маркеров, используемых для определения активности ВЗК, является лактоферрин – железо-связывающий гликопротеин, который входит в состав вторичных гранул полиморфноядерных нейтрофилов – первичного компонента острой воспалительной реакции. Уровни фекального лактоферрина идентифицируют пациентов с кишечным воспалением с чувствительностью, превышающей 90% [43], но применение теста в практике ограничена из-за невысокой стабильности при комнатной температуре.

Клиническая применимость другого биомаркера – скорости оседания эритроцитов – ограничена его невысокой чувствительностью и специфичностью [44]. Напротив, фекальный кальпротектин обладает высокой точностью, к сожалению, его повышенный уровень не является специфичным для ВЗК, поскольку он отражает активацию нейтрофильных гранулоцитов и встречается при ряде других заболеваний кишки, таких как колоректальный рак, целиакии и инфекционном энтерите [45,46]. В то же время, метаанализ исследований точности диагностики показал, что тесты на фекальный кальпротектин могут дифференцировать пациентов с ВЗК от пациентов с функциональным заболеванием с обобщенным значением чувствительности 93% и обобщенным значением специфичности 96% при уровнях cut-off от 24 до 150 мкг/г [47,48]. Поэтому перспективно сочетание фекального кальпротектина и других биомаркеров, которые помогут сузить спектр заболеваний и уточнить стадию заболевания.

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%.

Ограничениями данного исследования следует считать небольшой объем выборки, недостаточную однородность обследованных групп. Предполагается оценка возможностей предложенного подхода на уровне популяции, в проспективных исследованиях, оценка воспроизводимости метода, проведение внутренней и внешней валидации.

Заключение

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. Предложенный способ комбинированного использования параметров эритроцитов и уровня фекального кальпротектина обеспечил достаточную диагностическую точность: чувствительность 91,9%, специфичность – 93,1%, индекс точности 92,3%.

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. № АААА-А17–117112850280–2.

Литература | References

1. Clinical recommendations "Ulcerative colitis" (approved by the Ministry of Health of Russia). Russian Gastroenterological Association; Association of Coloproctologists of Russia. 2020 (in Russ.)
Клинические рекомендации «Язвенный колит» (утв. Минздравом России). Российская гастроэнтерологическая ассоциация; Ассоциация колопроктологов России. –2020.
2. Ivashkin V. T., Shelygin Yu. A., Abdulganieva D. I., et al. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of Crohn's disease in adults. *Coloproctology*. 2020;19 (2): 8–38. (in Russ.) doi.org/10.33878/2073-7556-2020-19-2-8-38
Ивашкин В. Т., Шельгин Ю. А., Абдулганиева Д. И. и соавт. Клинические рекомендации по диагностике и лечению болезни Крона у взрослых. Колопроктология. 2020;19 (2): 8–38. Doi: 10.33878/2073-7556-2020-19-2-8-38
3. Truelove S. C., Witts L. J. Cortisone in ulcerative colitis; final report on a therapeutic trial. *Br. Med. J.* 1955; 2: 1041–1048.
4. Schroeder K. W., Tremaine W. J., Ilstrup D. M. Coated oral 5-aminosalicylic acid therapy for mildly to moderately active ulcerative colitis. A randomized study. *N. Engl. J. Med.* 1987; 317 (26): 1625–1629.
5. Geboes K., Riddell R., Ost A. et al. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis. *Gut*. 2000; 47 (3): 404–409.
6. Ivashkin V. T., Shelygin Yu. A., Khalif I. L., et al. Clinical recommendations of the Russian Association and the Association of Coloproctologists of Russia for the diagnosis and treatment of Crohn's disease. *Coloproctology*. 2017; 60 (2): 7–29. (in Russ.) DOI: 10.22416/1382-4376-2017-27-5-76-93
Ивашкин В. Т., Шельгин Ю. А., Халиф И. Л. и др. Клинические рекомендации Российской ассоциации и ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению болезни Крона. Колопроктология. 2017; 60 (2): 7–29. DOI: 10.22416/1382-4376-2017-27-5-76-93
7. Torres J., Bonovas S., Doherty G., et al. Guidelines on Therapeutics in Crohn's Disease: Medical Treatment. *J. Crohns. Colitis*. 2020; 1 (14): 4–22.
8. Best W. R., Beckett J. M., Singleton J. W., Kern F. Jr. Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's Disease Study. *Gastroenterology*. 1976; 70 (3):439–444.
9. Mary J. Y., Modigliani R. 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). *Gut*. 1989; 7: 983–989.
10. Panes J., Jairath V., Levesque B. G. Advances in Use of Endoscopy, Radiology, and Biomarkers to Monitor Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. 2017; 152 (2): 362–373. doi: 10.1053/j.gastro.2016.10.005
11. 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
12. Uchiyama K., Odahara S., Nakamura M., et al. The fatty acid profile of the erythrocyte membrane in initial-onset inflammatory bowel disease patients. *Dig Dis Sci*. 2013;58 (5):1235–1243. DOI:10.1007/s10620-012-2508-6
13. Lewis J. D. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2011; 140 (6):1817–1826. DOI: 10.1053/j.gastro.2010.11.058
14. D'Haens G., Ferrante M., Vermeire S., et al. Fecal calprotectin is a surrogate marker for endoscopic lesions in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18 (12): 2218–2224. DOI:10.1002/ibd.22917
15. Sipponen T., Kärkkäinen P., Savilahti E., et al. Correlation of faecal calprotectin and lactoferrin with an endoscopic score for Crohn's disease and histological findings. *Aliment Pharmacol Ther*. 2008; 15 (28): 1221–1229. doi: 10.1111/j.1365-2036.2008.03835.x.
16. van de Logt F., Day A. S. S100A12: a noninvasive marker of inflammation in inflammatory bowel disease. *J. Dig. Dis*. 2013; 14 (2):62–67. DOI:10.1111/1751-2980.12012.
17. Soubières A. A., Poullis A. Emerging Biomarkers for the Diagnosis and Monitoring of Inflammatory Bowel Diseases.

- Inflamm Bowel Dis.* 2016. 22; (8):2016–2022. doi: 10.1097/MIB.0000000000000836.
18. Sandborn WJ., Feagan B.G., Hanauer S.B. et al. A review of activity indices and efficacy endpoints for clinical trials of medical therapy in adults with Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2002. 122 (2):512–530. doi: 10.1053/gast.2002.31072.
19. Generalov V.M., Kruchinina M.V., Durymanov A.G., et al. Dielectrophoresis in the diagnosis of infectious and non-infectious diseases. Novosibirsk: TSERIS. 2011 (in Russ.)
Генералов В. М., Кручинина М. В., Дурьманов А. Г. и соавт. Диэлектрофорез в диагностике инфекционных и неинфекционных заболеваний. Новосибирск: ЦЭРИС. 2011.
20. Greenhald T. Fundamentals of evidence-based medicine. Moscow: GEOTAR-Media. 2006.
Гринхальд Т. Основы доказательной медицины. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2006.
21. Maaser C., Sturm A., Vavricka S.R., et al. European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO] and the European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology [ESGAR]. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD. Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *J. Crohns. Colitis*. 2019; 13:144–164. doi: 10.1093/ecco-jcc/jjy113.
22. Sturm A., Maaser C., Calabrese E., et al. European Crohn's and Colitis Organisation [ECCO] and the European Society of Gastrointestinal and Abdominal Radiology [ESGAR]. ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 2: IBD scores and general principles and technical aspects. *J. Crohns. Colitis*. 2019. 13:273–284. doi: org/10.1093/ecco-jcc/jjz180
23. Vucelic B. Inflammatory bowel diseases: controversies in the use of diagnostic procedures. *Dig. Dis.* 2009; 27:269–277. doi:10.1159/000228560
24. Vermeire S., Van Assche G., Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut*. 2006; 55:426–431. doi: 10.1136/gut.2005.069476.
25. 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
26. Lippi G., Targher G., Montagnana M., Salvagno G.L., Zoppini G., Guidi G.C. Relation between red blood cell distribution width and inflammatory biomarkers in a large cohort of unselected outpatients. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2009; 133:628–632. DOI:10.1043/1543–2165–133.4.628
27. Novitsky V.V., Riazantseva N.V., Stepovaya E.A. Physiology and pathophysiology of the erythrocyte. Tomsk. Tomsk University Publishing House. 2004. (in Russ.)
Новицкий В. В., Рязанцева Н. В., Степовая Е. А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск. Изд-во Томского университета. 2004.
28. Gennis R. Biomembranes: molecular structure and functions. Moscow: Mir. 1997. (in Russ.)
Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции. М.: Мир. 1997.
29. Weiss G., Goodnough L.T. Anemia of chronic disease. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352:1011–1023. DOI:10.1056/NEJMra041809
30. Price E.A., Schrier S.L. Unexplained aspects of anemia of inflammation. *Adv. Hematol.* 2010. DOI:10.1155/2010/508739
31. Testa A., Rispo A., Romano M., et al. The burden of anaemia in patients with inflammatory bowel diseases. *Digest. Liv. Dis.* 2016; 48:267–270. DOI:10.1016/j.dld.2015.10.012
32. Weiss G., Gasche C. Pathogenesis and treatment of anemia in inflammatory bowel disease. *Haematologica*. 2010; 95: 175–178. DOI:10.3324/haematol.2009.017046
33. Guagnozzi D., Lucendo A.J. Anemia in inflammatory bowel disease: a neglected issue with relevant effects. *World J. Gastroenterol.* 2014; 20: 3542–3551. DOI: 10.3748/wjg.v20.i13.3542
34. Borish L.C., Steinke J.W. 2. Cytokines and chemokines. *J. All. Clin. Immunol.* 2003; 111(2 Suppl): S460–S475. – doi: 10.1067/mai.2003.108
35. Semrin G., Fishman D.S., Bousvaros A., et al. Impaired intestinal iron absorption in Crohn's disease correlates with disease activity and markers of inflammation. *Inflamm. Bowel. Dis.* 2006; 12: 1101–1106. DOI:10.1097/01.mib.0000235097.86360.04
36. de Silva A.D., Mylonaki M., Rampton D.S. Oral iron therapy in inflammatory bowel disease: usage, tolerance, and efficacy. *Inflamm. Bowel. Dis.* 2003; 9: 316–320. doi: 10.1097/00054725–200309000–00005
37. Oliveira A.M., Cardoso F.S., Rodrigues C.G., et al. Can red cell distribution width be used as a marker of Crohn's disease activity? *GE Port J. Gastroenterol.* 2015; 23: 6–12. DOI:10.1016/j.jpgpe.2015.10.003
38. Zhulina Y., Cao Y., Amcoff K., et al. The prognostic significance of faecal calprotectin in patients with inactive inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2016; 44 (5): 495–504. DOI:10.1111/apt.13731
39. Kathiresan S., Larson M.G., Vasan R.S. et al. Contribution of clinical correlates and 13 C-reactive protein gene polymorphisms to interindividual variability in serum C-reactive protein level. *Circulation*. 2006; 113: 1415–1423. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.105.591271
40. Suk Danik J., Chasman D.I., Cannon C.P., et al. Influence of genetic variation in the C-reactive protein gene on the inflammatory response during and after acute coronary ischemia. *Ann. Hum. Genet.* 2006; 70: 705–716. DOI:10.1111/j.1469–1809.2006.00272. x
41. Siemons L., Ten Klooster P.M., Vonkeman H.E., et al. How age and sex affect the erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein in early rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2014; 15:368. doi: 10.1186/1471–2474–15–368
42. Lewis J. D. C-reactive protein: anti-placebo or predictor of response. *Gastroenterology*. 2005; 129: 1114–1116. DOI:10.1053/j.gastro.2005.07.041
43. Theede K., Holck S., Ibsen P., et al. Level of fecal calprotectin correlates with endoscopic and histologic inflammation and identifies patients with mucosal healing in ulcerative colitis. *Clin. Gastr. Hep.* 2015; 13: 1929–1936. DOI:10.1016/j.cgh.2015.05.038
44. Lewis J.D. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2011; 140 (6): 1817–1826. doi: 10.1053/j.gastro.2010.11.058.
45. Ertekin V., Selimoglu M.A., Turgut A. et al. Fecal calprotectin concentration in celiac disease. *J. Clin. Gastr.* 2010; 44 (8): 544–546. DOI:10.1097/MCG.0b013e3181cadbc0
46. Alibrahim B., Aljasser M.I., Salh B. Fecal calprotectin use in inflammatory bowel disease and beyond: a mini-review. *Can. J. Gastr. Hepatol.* 2015; 29 (3): 157–163. doi: 10.1155/2015/950286.
47. Menees S.B., Powell C., Kurlander J., et al. 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. *Am. J. Gastroenterol.* 2015;110: 444–454. DOI:10.1038/ajg.2015.6
48. Roseth A.G., Aadland E., Grzyb K. Normalization of faecal calprotectin: a predictor of mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.* 2004; 39: 1017–1020. doi: 10.1080/00365520410007971