

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С БОЛЕЗНЬЮ КРОНА

Шереметьев Ю.А., Поповичева А.Н., Левин Г.Я., Федулова Э.Н.

Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение «Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Нижний Новгород, Россия)

STUDY OF THE MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES IN THE CHILDREN WITH CROHN'S DISEASE

Sheremet'ev Yu.A., Popovicheva A.N., Levin G. Ya, Fedulova E. N.

Federal State Budgetary Institution «Privolzhsky Federal Research Medical Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation (Nizhniy Novgorod, Russia)

Для цитирования: Шереметьев Ю.А., Поповичева А.Н., Левин Г.Я., Федулова Э.Н. Исследование морфо-физиологических свойств эритроцитов у детей с болезнью Крона. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2018;149(1): 50–55.

For citation: Sheremet'ev YuA, Popovicheva AN, Levin GYa, Fedulova EN. Study of the morphological and physiological properties of erythrocytes in the children with crohn's disease. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2018;149(1): 50–55.

**Шереметьев
Юрий Александрович**
Sheremet'ev Yuri A.
ya.sher777@rambler.ru

Шереметьев Ю.А. — отделение гравитационной хирургии и гемодиализа, старший научный сотрудник, доктор биологических наук

Поповичева А.Н. — отделение гравитационной хирургии и гемодиализа, младший научный сотрудник

Левин Г.Я. — отделение гравитационной хирургии и гемодиализа, руководитель отделения, ведущий научный сотрудник, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ

Федулова Э.Н. — педиатрическое отделение Института педиатрии, заведующий отделением, главный научный сотрудник, доктор медицинских наук

Sheremet'ev Yu.A. — department of gravitation surgery and hemodialysis, senior researcher, doctor of biological sciences

Popovicheva A.N. — department of gravitation surgery and hemodialysis, junior researcher

Levin G. Ya. — department of gravitation surgery and hemodialysis, head of department, leading researcher, doctor of medical sciences, professor, honoured worker of science of the Russian Federation

Fedulova E.N. — pediatric department of the Institution of Pediatrics, head of department, chief researcher, doctor of medical sciences

Резюме

Цель. Изучить реологические и мембранные свойства эритроцитов у детей с болезнью Крона (БК).

Материалы и методы: у 17 пациентов с БК в возрасте от 10 до 17 лет исследованы реологические (деформируемость эритроцитов, морфология их агрегатов в аутологичной плазме крови) и мембранные свойства эритроцитов — состояние цитоскелета мембран эритроцитов и их агрегация, индуцируемая лантаном.

Результаты: у пациентов с БК выявлено нарушение деформируемости эритроцитов. При этом снижается средняя деформируемость эритроцитов и изменяется распределение количества клеток по степени их деформируемости. Изменяется морфологическая картина агрегации эритроцитов — наряду с образованием «монетных столбиков» появляются глыбчатые структуры их агрегатов. Значительно снижается стабильность цитоскелета эритроцитов. Показано, что агрегация эритроцитов больных при изучаемой концентрации лантана достоверно отличается от агрегации нормальных клеток.

Заключение: полученные результаты свидетельствуют о существенных изменениях реологических и мембранных свойств эритроцитов у детей с БК. Определение этих свойств эритроцитов позволяет получить дополнительную информацию о патогенезе БК и эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: эритроциты, болезнь Крона, деформируемость эритроцитов, морфология агрегатов, цитоскелет эритроцитов, агрегация эритроцитов, лантан

Summary

The aim of this work was to study the rheological and membrane properties of erythrocytes in children with Crohn's disease (CD).

Materials and Methods: The study was conducted in 17 patients with CD at the age of 10 to 17 years. The erythrocyte deformability, aggregate morphology in autologous plasma, state of membrane cytoskeleton and cell aggregation induced by lanthanum were studied.

Results: In patients with CD significant changes of average erythrocyte deformability and changes in distribution of the cell number for the degree of their deformability were revealed. Morphological pattern of erythrocyte aggregation was changed — along with the formation of «rouleaux» aggregates globular structures (clump) appeared. The stability of the erythrocyte cytoskeleton significantly decreases. Studying of human erythrocyte aggregation induced by lanthanum was shown that erythrocyte aggregation of patients at studied lanthanum concentration significantly different from normal cell aggregation. Current treatment resulted in improvement of rheological and membrane erythrocyte properties. However, complete normalization of erythrocyte properties did not occur.

Conclusion: The results show significant changes in the rheological and membrane properties of erythrocytes in children with CD. Determination of rheological and membrane properties of erythrocytes allow to obtain additional information on the process of the disease and the effectiveness of its treatment.

Key words: erythrocytes, Crohn's disease, erythrocyte deformability, erythrocyte morphology, erythrocyte cytoskeleton, erythrocyte aggregation, lanthanum

Болезнь Крона (БК) – хроническое рецидивирующее заболевание желудочно-кишечного тракта неясной этиологии, характеризующееся трансмуральным сегментарным распространением воспалительного процесса с развитием местных и системных осложнений, одна из нозологических форм воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) [1].

В соответствии с современными представлениями важную роль в развитии БК играют иммунные нарушения с дисбалансом цитокиновой регуляции [2, 3]. Дальнейшему развитию воспалительных реакций способствуют нарушение барьерной функции кишечника, метаболические и дисрегуляторные расстройства, хроническая интоксикация.

Можно назвать некоторые стороны патогенеза ВЗК, которые являются наиболее доказанными – дисфункция эндотелия, воспаление, тромбофилия, аутоагрессия, эндогенная интоксикация [4]. При этом следует подчеркнуть, что это взаимосвязанные и взаимообусловленные процессы. В настоящее время доказано, что эритроцит можно рассматривать как универсальную модель для изучения изменений цитоплазматических мембран и метаболизма клеток. Несмотря на это, в литературе имеются лишь единичные сообщения об изучении

физико-химических свойств эритроцитов в гастроэнтерологии [5]. В то же время в патогенезе ВЗК наименее изученной остается роль микроциркуляторных нарушений. Поэтому исследование состояния мембран эритроцитов при ВЗК и, в частности, БК так важно не только для понимания патогенеза этих нарушений, но и непосредственно для оценки состояния основного звена микроциркуляции – гемореологии. Разработка этой проблемы важна также и для оценки эффективности терапии БК.

В патогенезе различных заболеваний, по данным ряда авторов, значительная роль принадлежит нарушениям реологии эритроцитов [6]. Это показано у больных сахарным диабетом [7], сердечно-сосудистыми заболеваниями [8] и сепсисом [9].

В то же время практически не изучены реологические свойства эритроцитов (агрегация и деформируемость) при БК, играющие важную роль в изменении микроциркуляции. Также при этом не исследованы свойства мембран эритроцитов, которые могут в значительной степени определять изменение реологических свойств эритроцитов.

Цель настоящего исследования – изучить реологические и мембранные свойства эритроцитов у детей с болезнью Крона (БК).

Материал и методы исследования

На проведение исследования было получено разрешение локально-этического комитета ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России. От родителей всех детей (или от самих детей старше 15 лет) получено информированное согласие на участие в исследовании.

Исследована кровь 17 пациентов обоего пола в возрасте от 10 до 17 лет, страдающих БК с непрерывно-рецидивирующим течением. Диагноз верифицирован данными комплексного обследования, включавшего клиничко-лабораторные данные,

а также эндоскопическое исследование слизистой оболочки кишечника с морфологическим анализом биоптатов. Исследования проводили в период обострения болезни. Обострение БК зарегистрировано у 71 % пациентов с умеренной активностью заболевания по индексу активности болезни Крона CDAI (Crohn's Disease Activity Index), составившему в среднем от 11 до 30 баллов и у 29 % пациентов с высокой активностью заболевания (CDAI от 30 до 100 баллов). Лечение проводилось с применением

производных 5-аминосалициловой кислоты, глюкокортикостероидов, иммунодепрессантов, генно-инженерной биологической терапии.

В качестве контроля использовали кровь 20 условно здоровых детей с аналогичными половыми и возрастными характеристиками.

Кровь забирали в вакуумные пробирки, содержащие 3,8 % цитрат натрия (соотношение 9:1). Бестромбоцитарную плазму получали путем центрифугирования стабилизированной крови в течение 20 мин при 3000 об/мин. Тромбоциты и лейкоциты удаляли, а эритроциты использовали для изучения морфологии агрегатов клеток и их деформируемости.

Морфологию агрегатов эритроцитов изучали предложенным нами методом с помощью светового

микроскопа [10,11], оснащенного мегапиксельной цифровой телевизионной камерой цветного изображения.

Деформируемость эритроцитов в искусственном сдвиговом потоке изучали в специально сконструированном устройстве – ригидометре [12]. После деформации эритроцитов при напряжении сдвига 21 Па эритроциты фиксировали глутаровым альдегидом. Фиксированные эритроциты помещали в поле зрения светового микроскопа и проводили микрофотосъемку. На полученных фотографиях определяли длину и ширину деформированных клеток (100 клеток) и рассчитывали индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ, отн. ед.) как показатель деформируемости по формуле:

$$\text{ИУЭ} = (L - W) / (L + W),$$

где L – длина деформированной клетки; W – ее ширина.

Полученные результаты обрабатывали и определяли среднюю деформируемость эритроцитов и распределение количества эритроцитов (%) по степени их деформируемости согласно их ИУЭ по следующим группам: 0,30–0,35; 0,36–0,40; 0,41–0,45; 0,46–0,50; 0,51–0,55; 0,56–0,60; 0,61–0,65; 0,66–0,70.

Изучение мембранных свойств проводили на эритроцитах, выделенных сразу после взятия крови и трижды промытых в физиологическом растворе.

Состояние цитоскелета эритроцитов оценивали методом термоиндукции после их прогревания при 49°C. Принцип метода основан на том, что прогревание суспензии эритроцитов при 49–50°C приводит к денатурации основного белка цитоскелета спектрина [13,14]. В результате этого происходит диск-сферическая трансформация эритроцитов – дискоциты превращаются в сфероциты. 0,05 мл отмытых эритроцитов добавляли к 10 мл забуференного физиологического раствора (10мМ трис-НCl, 150 мМ NaCl, pH 7,4), помещали на водяную баню и прогревали при 49°C в течение 8

мин. После этого эритроциты фиксировали в 0,2 % растворе глутарового альдегида, приготовленного на фосфатном буфере, и подсчитывали количество сфероцитов на 100 клеток. Об изменении состояния цитоскелета эритроцитов судили по количеству сферических форм клеток. Увеличение количества сфероцитов (%) свидетельствовало о снижении стабильности цитоскелета.

Состояние мембран эритроцитов определяли по изменению их агрегационной способности под влиянием лантана при финальной концентрации 320 мкМ [15]. Агрегация эритроцитов сопровождалась снижением оптической плотности суспензии, что регистрировалось фотометрически в виде записи кривой агрегатограммы. Процесс лантан-индуцированной агрегации эритроцитов оценивали по максимальной амплитуде агрегации (максимальное светопропускание – Ма, %).

Результаты исследования обработаны методами непараметрической статистики с применением критериев Манна-Уитни и парных сравнений Вилкоксона. За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что у всех обследованных пациентов при обострении БК отмечены существенные изменения реологических свойств эритроцитов. Индекс удлинения эритроцитов (деформируемость эритроцитов) у больных был достоверно ниже, чем в контроле ($0,51 \pm 0,01$ и $0,56 \pm 0,005$ соответственно). Распределение количества эритроцитов по степени их деформируемости у здоровых доноров и при БК представлено в таблице. При БК показано значительное увеличение количества эритроцитов в группе с наименьшей деформируемостью (ИУЭ 0,35–0,40). Содержание среднедеформированных эритроцитов (ИУЭ 0,46–0,55) достоверно от контроля не отличалось. При этом наблюдалось резкое снижение числа сильнодеформированных эритроцитов (ИУЭ 0,56–0,70).

Морфологическое исследование агрегации эритроцитов выявило изменение характера

агрегации – наряду с «монетными столбиками» образуются глыбчатые (патологические) структуры агрегатов. Эритроциты в агрегатах расположены более плотно, чем в норме.

Нарушаются и мембранные свойства эритроцитов. Это проявляется в снижении стабильности цитоскелета эритроцитов – количество сферических форм клеток значительно увеличивается (до $59,50 \pm 4,77$ % при $30,67 \pm 2,11$ % в норме, $p < 0,05$).

Изменяется индуцированная лантаном агрегационная способность эритроцитов при БК. Максимальная амплитуда агрегатограммы увеличивается с $41,28 \pm 2,61$ % в контроле до $49,66 \pm 1,61$ % при БК ($p < 0,05$).

В качестве характерного примера приводим результаты исследования морфо-физиологических свойств эритроцитов пациента Р., 13 лет, который поступил с диагнозом БК множественной

Степень деформируемости эритроцитов (ИУЭ, отн. ед.)	Количество деформированных клеток, %	
	Контроль	Болезнь Крона
0,30–0,35	1,50±0,50	8,33±1,37 *
0,36–0,40	1,50±0,50	5,00±0,78 *
0,41–0,45	5,00±2,01	11,83±1,93
0,46–0,50	13,00±3,01	19,50±2,42
0,51–0,55	23,50±3,51	23,67±0,77
0,56–0,60	35,50±4,51	19,67±2,30 *
0,61–0,65	12,00±3,01	9,00±1,27
0,66–0,70	8,00±1,00	3,00±0,94 *

Таблица

Распределение эритроцитов по степени их деформируемости при болезни Крона

Примечание:

* $p < 0,05$ – сравнение с контролем, критерий Манна-Уитни.

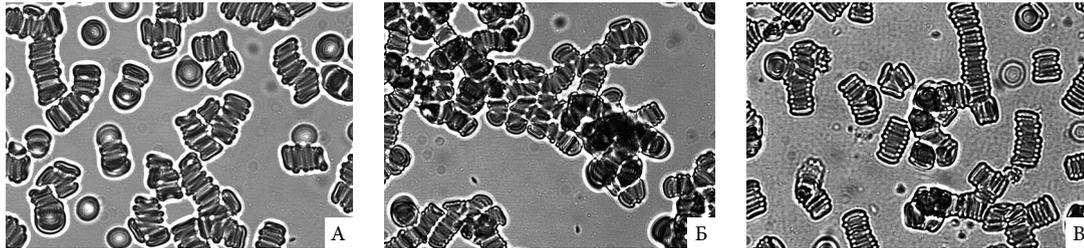


Рисунок 1.

Морфология агрегатов эритроцитов здорового донора (а), эритроцитов пациента с БК при госпитализации (б) и после лечения (в). Увел. об.: 100х.

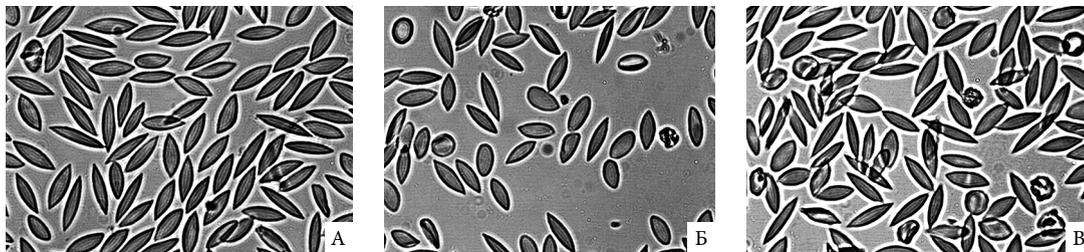


Рисунок 2.

Деформируемость эритроцитов здорового донора (а), эритроцитов пациента с БК при госпитализации (б) и после лечения (в). Фиксация глутаровым альдегидом. Увел. об.: 100х.

локализации (терминальный отдел подвздошной кишки, толстая кишка – фаза афт), тяжелое, непрерывно-рецидивирующее, гормонозависимое течение. Лечение проводилось по стандартной схеме с применением иммуномодуляторов и глюкокортикостероидов. Кровь для исследований забирали в день поступления и после проведенного лечения.

На рис. 1 показана морфологическая картина эритроцитарных агрегатов здорового донора и больного Р. На рис. 1а видно, что агрегация эритроцитов здорового донора имеет вид «монетных столбиков». При этом наблюдается непрочная упаковка клеток в «монетных столбиках». При БК характер агрегации эритроцитов резко меняется. Наряду с «монетными столбиками» появляются глыбчатые (патологические) структуры агрегатов эритроцитов, отмечена более плотная упаковка эритроцитов (рис. 1б).

Изучение распределения количества эритроцитов по степени их деформируемости показало, что эти параметры у пациента Р. претерпевают существенные изменения по сравнению со здоровыми донорами. Так, средняя деформируемость эритроцитов пациента уменьшалась на 12,5 % (ИУЭ снижался до 0,49 при $0,56 \pm 0,005$ в контроле, $p < 0,05$) (рис. 2б). Значительно изменяется распределение количества эритроцитов по степени их деформируемости (рис. 3). Увеличение количества

эритроцитов при БК происходило в группе с ИУЭ 0,35–0,45, что свидетельствует о появлении популяции слабдеформированных клеток. Практически не изменялось содержание эритроцитов в группе с ИУЭ 0,46–0,55. Снижение количества эритроцитов наблюдалось в группах с более высоким ИУЭ 0,56–0,70. Это связано с увеличением количества слабдеформированных клеток.

Исследование мембранных свойств эритроцитов больного Р. также показало их изменения по сравнению с контрольной группой. У пациента с БК существенно снижена стабильность цитоскелета эритроцитов. Это проявлялось в увеличении после термоиндукции количества сфероцитов (94 %) по сравнению с донорскими эритроцитами ($30,67 \pm 2,11$ %) (рис. 4 а, б). Интересно отметить, что у пациента Р. образование сфероцитов сопровождается появлением большого количества микровезикул. Это согласуется с данными [16] об усилении микровезикуляции при БК.

Изменяется и агрегационная способность эритроцитов больного Р. под влиянием лантана. Агрегация возрастает до 52,40 % при $41,28 \pm 2,61$ % в норме. Это свидетельствует о том, что состояние мембран эритроцитов существенно изменяется при БК.

Мы также изучили свойства эритроцитов пациента Р. не только при поступлении, но и после проведенного лечения. На рис. 1в видно, что после

Рисунок 3.
Распределение эритроцитов по степени их деформируемости у здоровых доноров и пациента с БК.

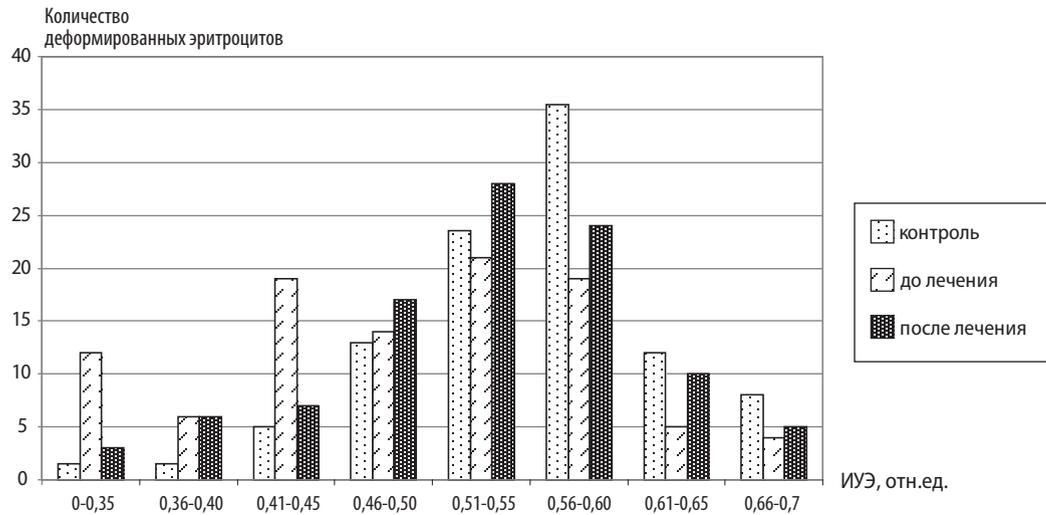
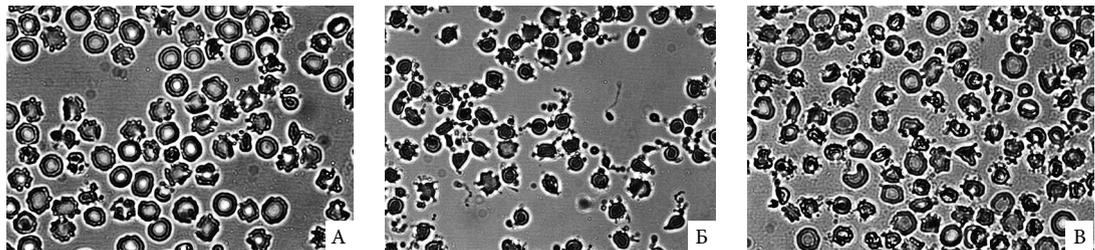


Рисунок 4.
Морфология эритроцитов здорового донора (а) и эритроцитов пациента с БК при госпитализации (б) и после лечения (в) после прогревания клеток при 49°C в течение 8 мин. Фиксация глутаровым альдегидом. Увел. об.: 100х.



лечения характер агрегации изменяется – практически исчезают глыбчатые (патологические) структуры агрегатов, однако упаковка клеток остается достаточно плотной.

Улучшалась и средняя деформируемость эритроцитов при БК (ИУЭ увеличивался с 0,49 до 0,53). Однако полного восстановления этого показателя не происходило (рис. 2в).

После лечения происходило увеличение количества клеток, которые лучше подвергаются деформации (рис. 3). В то же время в большинстве групп эритроцитов, изучаемых по показателю ИУЭ, полной нормализации их деформируемости не происходило.

Проведенное лечение положительно сказывается также и на мембранных свойствах эритроцитов у больного Р. На рис. 4в видно, что после лечения улучшается состояние цитоскелета эритроцитов. Количество сфероцитов снижается с 94% до 33%. При этом образуется значительно меньшее количество микровезикул.

Агрегационная способность эритроцитов под влиянием лантана снижается до 30,8%. Однако это значение агрегации остается отличным от контроля.

Таким образом, проведенные исследования показали, что у детей с болезнью Крона происходят значительные нарушения как реологических (ухудшение деформируемости, появление глыбчатых структур агрегатов), так и мембранных свойств эритроцитов (снижение стабильности их цитоскелета и возрастание агрегации под влиянием лантана). Проведенное лечение больного Р. оказывает положительное влияние как на реологические (улучшение деформируемости, значительное уменьшение образования глыбчатых структур агрегатов), так и на мембранные свойства эритроцитов.

Изучаемые реологические и мембранные свойства эритроцитов можно рекомендовать для мониторинга течения заболевания и эффективности проводимой терапии у детей с болезнью Крона.

Литература

1. Белоусова Е. А. Язвенный колит и болезнь Крона. – Тверь: Триада, 2002.
2. de Souza H. S., Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2016, vol. 13, no. 1, pp. 13–27.
3. Murch S. H., Lamkin V. A., Savage M. O. et al. Serum concentrations of tumour necrosis factor in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut*, 1991, vol. 32, no. 8, pp. 913–917.
4. Cibor D., Domagala-Rodacka R., Rodacki T. et al. Endothelial dysfunction in inflammatory bowel diseases: pathogenesis, assessment and implications. *World J Gastroenterol.*, 2016, vol. 22, no. 3, pp. 1067–1077.
5. Кручинина М. В., Курилович С. А., Воевода М. И. и соавт. Современные методы физико-химических исследований в гастроэнтерологической практике: опыт взаимодействия. *Эксперим. и клин. гастроэнтер.*, 2015, no. 3(115), pp. 74–82.
6. Baskurt O. K., Meiselman H. J. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2013, vol. 53, no. 1–2, pp. 23–37.
7. Shin S., Ku Y., Babu N., Singh M. Erythrocyte deformability and its variation in diabetes mellitus. *Indian J. Exp. Biol.*, 2007, vol. 45, no. 1, pp. 121–128.
8. Fu G. X., Ji M., Han L. Z. et al. Erythrocyte rheological properties but not whole blood and plasma viscosity are associated with severity of hypertension in older people. *Z. Gerontol. Geriatr.*, 2017, vol. 50, no. 3, pp. 233–238.
9. Donadello K., Piagnerelli M., Reggiori G. et al. Reduced red blood cell deformability over time is associated with
- а poor outcome in septic patients. *Microvasc. Res.*, 2015, vol. 101, pp. 8–14.
10. Шереметьев Ю. А., Поповичева А. Н., Rogozin M. M., Левин Г. Я. Влияние аденозина на форму, морфологию агрегатов и агрегационную способность эритроцитов, истощенных по АТФ. *Биофизика*, 2014, том 59, no. 3, pp. 488–491.
11. Шереметьев Ю. А., Поповичева А. Н., Левин Г. Я. Лизофосфатидная кислота и агрегация эритроцитов человека. *Цитология*, 2014, том 56, no. 1, pp. 84–88.
12. Левин Г. Я., Яхно В. Г., Царевский Н. Н., Котяева Н. П. Устройство для деформации эритроцитов в сдвиговом потоке. А. с. СССР № 1363065, Б.И. 1987. № 48.
13. Brandts J. F., Erickson L., Lysko K. et al. Calorimetric studies of the structural transitions of the human erythrocyte membrane. The involvement of spectrin in the A transition. *Biochemistry*, 1977, vol. 16, no. 15, pp. 3450–3454.
14. Lux S. E., John K. M., Ukena T. E. Diminished spectrin extraction from ATP-depleted human erythrocytes. Evidence relating spectrin to changes in erythrocyte shape and deformability. *J. Clin. Invest.*, 1978, vol. 61, no. 3, pp. 815–827.
15. Шереметьев Ю. А., Суслов Ф. Ю. Способ оценки изменения состояния мембран эритроцитов. Патент РФ № 2082968, Б.И. 1997. № 18, С. 192.
16. Voudoukis E., Vetsika E. K., Giannakopoulou K. et al. Distinct features of circulating microparticles and their relationship with disease activity in inflammatory bowel disease. *Ann. Gastroenterol.*, 2016, vol. 29, no. 2, pp. 180–187.

Reference

1. Belousova E. A. Yazvennyi kolit i bolezni' Krona. – Tver': Triada, 2002.
2. de Souza H. S., Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2016;13(1):13–27.
3. Murch S. H., Lamkin V. A., Savage M. O., Walker-Smith J. A., MacDonald. Serum concentrations of tumour necrosis factor in childhood chronic inflammatory bowel disease. *Gut*. 1991;32(8):913–917.
4. Rodacki T., Jarczyszyn A., Mach T., Owczarek D. Endothelial dysfunction in inflammatory bowel diseases: pathogenesis, assessment and implications. *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(3):1067–1077.
5. Kruchinina M. V., Kurilovich S. A., Voevoda M. I., Kruchina M. V., Kurilovich S. A., Voevoda M. I., Gromov A. A., Nemtsova E. G., Generalov V. M., Safatov A. S., Generalov K. V., Buryak G. A., Kruchinin V. N., Rykhlytskii S. V., Spesivtsev E. V., Volodin V. A., Mogil'nikov K. P., Antsygin V. D., Pel'tek S. E., Shekhovtsev S. V. Sovremennyye metody fiziko-khimicheskikh issledovaniy v gastroenterologicheskoi praktike: opyt vzaimodeystviya. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya – Experimental and Clinical Gastroenterology Journal*. 2015;115(3):74–82.
6. Baskurt O. K., Meiselman H. J. Erythrocyte aggregation: basic aspects and clinical importance. *Clinical Hemorheology Microcirculation*. 2013;53(1–2):23–37.
7. Shin S., Ku Y., Babu N., Singh M. Erythrocyte deformability and its variation in diabetes mellitus. *Indian Journal of Experimental Biology*. 2007;45(1):121–128.
8. Fu G. X., Ji M., Han L. Z., Xu C. C., Pan F. F., Hu T. J., Zhong Y. Erythrocyte rheological properties but not whole blood and plasma viscosity are associated with severity of hypertension in older people. *Z. Gerontol. Geriatr*. 2017;50(3):233–238.
9. Donadello K., Piagnerelli M., Reggiori G., Gottin L., Scotletta S., Occhipinti G., Boudjeltia K. Z., Vincent J. L. Reduced red blood cell deformability over time is associated with a poor outcome in septic patients. *Microvascular Research*. 2015;101:8–14.
10. Sheremet'ev Yu. A., Popovicheva A. N., Rogozin M. M., Levin G. Ya. Vliyanie adenzina na formu, morfologiyu agregatov i agregatsionnyuyu sposobnost' eritrotsitov, istoshchennykh po ATF. *Biofizika*. 2014;59(3):488–491.
11. Sheremet'ev Yu. A., Popovicheva A. N., Levin G. Ya. Lizo-fosfatidnaya kislota i agregatsiya eritrotsitov cheloveka. *Tsitologiya*. 2014;56(1):84–88.
12. Levin G. Ya., Yakhno V. G., Tsarevskii N. N., Kotyaeva N. P. Ustroistvo dlya deformatsii eritrotsitov v sdvigo-vom potoke [The device for dynamic deformation of red blood cells in shear flow]. А. s. SSSR № 1363065, Б.И. 1987. № 48.
13. Brandts J. F., Erickson L., Lysko K., et al. Calorimetric studies of the structural transitions of the human erythrocyte membrane. The involvement of spectrin in the A transition. *Biochemistry*. 1977;16(15):3450–3454.
14. Lux S. E., John K. M., Ukena T. E. Diminished spectrin extraction from ATP-depleted human erythrocytes. Evidence relating spectrin to changes in erythrocyte shape and deformability. *J. Clin. Invest.* 1978;61(3):815–827.
15. Sheremet'ev Ju. A., Suslov F. Ju. Sposob ocenki izmeneniya sostojaniya membran jeritrotsitov [A method for assessing the changes in the erythrocyte membranes.]. Patent RF № 2082968, Б.И. 1997. № 18. 192 p.
16. Voudoukis E., Vetsika E. K., Giannakopoulou K., Karmiris K., Theodoropoulou A., Sfridakis A., Georgoulis V., Paspatis G. A., Koutroubakis I. E. Distinct features of circulating microparticles and their relationship with disease activity in inflammatory bowel disease. *Annals of Gastroenterology*. 2016;29(2):180–187.