

## Оценка состояния клеточных мембран на фоне длительного применения антицитокиновой терапии у пациентов с язвенным колитом

Чашкова Е.Ю.<sup>1,2</sup>, Коротаева Н.С.<sup>1,2</sup>, Кузнецова Э.Э.<sup>1</sup>, Горохова В.Г.<sup>1</sup>, Соболева Э.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);

<sup>2</sup> ГБУЗ Иркутская орден «Знак Почёта» областная клиническая больница (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Чашкова Елена Юрьевна, e-mail: elenachash1027@yandex.ru

### Резюме

Биологическая терапия в лечении иммуноопосредованных состояний изменила их течение, качество жизни пациентов и прогноз заболеваний. Накопленный человечеством 20-летний опыт применения генно-инженерных препаратов привёл к возникновению ряда вопросов, касающихся, в том числе, безопасности при длительном назначении биологической терапии. У пациентов, страдающих язвенным колитом, выявлены изменения клеточных мембран, отражающих их структурные и энергетические характеристики. Долгосрочное назначение инфликсимаба приводит к стабилизации энергетических процессов в мембране эритроцитов и улучшает гомеостатическую функцию почек.

**Цель исследования:** оценить влияние длительного применения блокаторов TNF-α (инфликсимаб) на структурно-функциональные характеристики клеточных мембран и функциональное состояние почек у пациентов со среднетяжёлым и тяжёлым течением язвенного колита.

**Материалы и методы.** Обследовано 103 пациента со среднетяжёлым и тяжёлым течением язвенного колита в период острой атаки и ремиссии, из них 28 пациентов получали базисную терапию с применением препарата инфликсимаб (IFX) в течение 10 лет, 75 пациентов получали стандартное базисное лечение. Пациенты группы биологической терапии принимали оригинальный препарат инфликсимаба – ремикейд. Группа сравнения составила 30 здоровых волонтеров, сопоставимых по полу и возрасту.

Анализ состояния мембран эритроцитарного звена проводили с использованием комплекса физико-химических методов: УФ-спектроскопии (спектрофотометр СФ-46м), высокоэффективной тонкослойной реакционной бумажной хроматографии, мембранной ультрафильтрации, ЯМР-спектроскопии эритроцитов на фосфорных (<sup>31</sup>P) и протонных (<sup>1</sup>H) ядрах. Функциональное состояние почек оценивали с помощью динамического сцинтиграфического исследования (с технемагом <sup>99m</sup>Tc).

**Результаты.** Длительное применение антицитокиновой терапии препаратом инфликсимаб в течение 10 лет у пациентов с язвенным колитом при достижении глубокой ремиссии способствует улучшению показателей эндогенной интоксикации, восстановлению структурно-функциональных характеристик клеточных мембран, нормализации энергообмена клетки и не имеет отрицательного влияния на функциональное состояние почек.

**Ключевые слова:** язвенный колит, антицитокиновая терапия, блокаторы TNF-α, клеточные мембраны

**Для цитирования:** Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Соболева Э.В. Оценка состояния клеточных мембран на фоне длительного применения антицитокиновой терапии у пациентов с язвенным колитом. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 84-90. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.14

## Assessment of the State of Cell Membranes against the Background of Prolonged Use of Anticytokine Therapy in Patients with Ulcerative Colitis

Chashkova E.Yu.<sup>1,2</sup>, Korotayeva N.S.<sup>1,2</sup>, Kuznetsova E.E.<sup>1</sup>, Gorokhova V.G.<sup>1</sup>, Soboleva E.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, 664003 Irkutsk, Russian Federation); <sup>2</sup> Irkutsk Regional Clinical Hospital (Yubileyniy 100, 664049 Irkutsk, Russian Federation)

Corresponding author: Elena Yu. Chashkova, e-mail: elenachash1027@yandex.ru

### Abstract

Biological therapy in the treatment of immune-mediated conditions has changed their course, the quality of life of patients and the prognosis of diseases. The accumulated by mankind 20 years of experience with the use of genetically engineered drugs has led to a number of questions regarding, among other issues, safety in the long-term administration of biological therapy. Patients suffering from ulcerative colitis revealed changes in cell membranes, reflecting their structural and energy characteristics. Long-term administration of Infliximab leads to the stabilization of energy processes in the erythrocyte membrane and improves homeostatic function of the kidneys.

**The aim of the study** was to evaluate the effect of long-term use of TNF-α blockers (Infliximab) on the structural and functional characteristics of cell membranes and the functional state of the kidneys in patients with moderate to severe ulcerative colitis.

**Materials and methods.** We examined 103 patients with moderate to severe ulcerative colitis during the period of acute attack and remission, of which 28 patients received basic therapy using the drug Infliximab (IFX) for 10 years, 75 patients received standard basic treatment. The patients of the biological therapy group took the original drug Infliximab – Remicade. The comparison group consisted of 30 healthy volunteers, comparable by sex and age.

The analysis of the state of erythrocyte membranes was carried out using a set of physicochemical methods: UV spectroscopy (SF-46m spectrophotometer), high-performance thin-layer reaction paper chromatography, membrane

*ultrafiltration, erythrocyte NMR spectroscopy on phosphoric ( $^{31}\text{P}$ ) and proton ( $^1\text{H}$ ) nuclei. The functional state of the kidneys was evaluated using a dynamic scintigraphic study (with the technemage -Tc-99m).*

**Results.** *Prolonged use of anticytokine therapy with Infliximab for 10 years in patients with ulcerative colitis, upon reaching deep remission, improves endogenous intoxication, restores the structural and functional characteristics of cell membranes, normalizes cell energy metabolism and does not negatively affect the functional state of the kidneys.*

**Key words:** *ulcerative colitis, anticytokine therapy, TNF- $\alpha$  blockers, cell membranes*

**For citation:** Chashkova E.Yu., Korotayeva N.S., Kuznetsova E.E., Gorokhova V.G., Soboleva E.V. Assessment of the State of Cell Membranes against the Background of Prolonged Use of Anticytokine Therapy in Patients with Ulcerative Colitis. *Acta biomedica scientifica*. 2019; 4(5): 84-90. doi: 10.29413/ABS.2019-4.5.14

## ВВЕДЕНИЕ

Язвенный колит (ЯК) – хроническое иммунное заболевание толстой кишки, сопровождающееся деструктивными изменениями её слизистой оболочки, развитием внекишечных и системных проявлений. Сложный каскад иммуновоспалительных реакций обуславливает повреждение клеточных мембран с развитием синдрома эндогенной интоксикации и нарушением функции печени и почек [1]. С внедрением новых медицинских технологий, в частности применение генно-инженерных биологических препаратов, оказывающих действие на определённые провоспалительные цитокины, появилась возможность изменять поведение болезни [2]. На сегодняшний день данные по безопасности длительного применения биологических агентов единичны и противоречивы, не определены возможные максимальные сроки лечения биологическими препаратами. Имеющиеся работы посвящены оценке длительности безрецидивного течения язвенного колита после отмены антицитокиновой терапии и выявлению предикторов рецидива заболевания [3–7]. Одной из нерешённых проблем применения блокаторов TNF- $\alpha$  остаётся вопрос безопасности их длительного назначения.

В России биологические препараты зарегистрированы с 2001 г., первыми пациентами оказались больные ревматологического профиля, лечение пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника начато с 2006 г. Один из первых центров антицитокиновой терапии (АЦТ) воспалительных заболеваний кишечника открыли в г. Иркутске, 26 марта 2006 г. провели инфузию инфликсимаба 22-летней пациентке с болезнью Крона.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить влияние долгосрочного применения блокаторов TNF- $\alpha$  (инфликсимаб) на структурно-функциональные характеристики клеточных мембран и функциональное состояние почек у пациентов со среднетяжёлым и тяжёлым течением язвенного колита.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 103 пациента со среднетяжёлым и тяжёлым течением язвенного колита: Группа пациентов биологической терапии составила 28 человек; пациентов, получающих только стандартное базисное лечение (5-АСК, месалазины, глюкокортикостероидные гормоны, иммунодепрессанты) – 75 чел. Инфузии IFX проводили стандартно, согласно утверждённой инструкции, дозу рассчитывали 5 мг на килограмм веса пациента, с индукционным курсом 0–2–6-я неделя и далее каждые 8 недель, специально подготовленным персоналом в оснащённом для АЦТ кабинете. Среднее количество инфузий –  $26 \pm 5,4$  (min – 8 инфузий – 1 год лечения; max – 45 инфузий – более 8 лет). Соотношение мужчин и жен-

щин – 1 : 1,9, средний возраст –  $34,5 \pm 1,3$  года (18–75 лет). Группа сравнения составила 30 здоровых волонтеров.

Состояние эритроцитарного звена оценивали с использованием комплекса физико-химических методов: УФ-спектроскопии крови (спектрофотометр СФ-46м), высокоэффективной тонкослойной реакционной бумажной хроматографии, мембранной ультрафильтрации [8]. ЯМР-спектроскопию эритроцитов на фосфорных ( $^{31}\text{P}$ ) и протонных ( $^1\text{H}$ ) ядрах (DRX-500, Bruker), позволяющих идентифицировать конкретные области повреждения мембраны. Основные фосфорные ядра: неорганический фосфат (НФ), монофосфат (МФ), 2,3-дифосфоглицерат (2,3-ДФГ),  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -аденозинтрифосфаты ( $\alpha$ -АТФ,  $\beta$ -АТФ,  $\gamma$ -АТФ) характеризуют метаболические и энергетические процессы в клетке [9]. Для оценки функционального состояния почек проводилось динамическое скинтиграфическое исследование (с технемагом Tc-99m), с определением эффективного почечного плазмотока [10].

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программы Statistica for Windows 10.0. Использовали непараметрические критерии Манна – Уитни ( $p_u$ ) и Вилкоксона ( $p_w$ ). Полученные данные представлены в виде медианы с нижним и верхним квартилями (25-й и 75-й процентиля). Для корреляционной оценки использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведён сравнительный анализ показателей эндогенной интоксикации у пациентов с ЯК, получающих антицитокиновую терапию, и пациентов, получающих стандартное лечение, до начала терапии и в процессе лечения. В обеих группах до начала проведения лечения отмечается статистически значимое повышение уровня катаболического пула плазмы крови и индекса эндогенной интоксикации, но уровень общего метаболического пула плазмы крови не превышал значения группы сравнения (табл. 1).

Уровень суммарного метаболического пула в суспензии эритроцитов (табл. 2), до начала и на фоне проводимой терапии, статистически значимо превышал таковой в группе сравнения, в отличие от общего метаболического пула плазмы, что свидетельствует о перераспределении веществ средней и низкой молекулярной массы между плазмой и эритроцитами с преимущественным накоплением их на цитоплазматической мембране эритроцитов.

Повышенный уровень окисленных форм адениловых нуклеотидов в крови характеризует нарушение процессов окислительного фосфорилирования в клетках, возможно, как результат резорбции этих соединений из поражённой кишки и накоплении окисленных продуктов на мембране эритроцитов [11].

Таблица 1

Показатели общего метаболического пула плазмы крови пациентов в группе АЦТ и группе стандартной терапии

Table 1

Indicators of the total metabolic pool of blood plasma of patients in the ACT group and the standard therapy group

Показатели синдрома эндогенной интоксикации	Группа антицитокиновой терапии (n = 28)			Группа стандартной терапии (n = 75)		Группа сравнения (n = 30)
	До лечения	АЦТ, индукционный курс	АЦТ (8–10 лет)	До лечения	На фоне лечения	
Общий метаболический пул (у. е.)	6,86 (5,83–8,32)	6,86 (5,41–10,11)	6,57 (4,96–8,97)	8,02 (6,03–9,98)	7,64 (5,75–9,48)	6,91 (6,06–8,03)
Катаболический пул (у. е.)	<b>2,40</b> <b>(1,69–2,55)*</b>	<b>1,85</b> <b>(1,54–2,26)#</b>	<b>1,29</b> <b>(0,80–2,05)#</b>	<b>2,48</b> <b>(2,06–3,40)*</b>	2,37 (1,86–3,03)	1,8 (1,52–2,23)
Индекс интоксикации (%)	<b>29,82</b> <b>(25,01–39,37)*</b>	<b>28,97</b> <b>(24,21–33,32)*</b>	<b>21,91</b> <b>(16,91–24,17)#</b>	<b>33,52</b> <b>(27,65–38,99)*</b>	31,15 (27,52–38,44)	25,81 (23,94–27,89)

Примечание. \* –  $p < 0,05$  при сравнении групп пациентов с группой сравнения по критерию Манна – Уитни; # –  $p < 0,05$  при сравнении групп пациентов до лечения и в процессе лечения по критерию Вилкоксона.

Таблица 2

Показатели метаболического пула суспензии эритроцитов пациентов в группе АЦТ и группе стандартной терапии

Table 2

Indicators of the metabolic pool of a suspension of red blood cells of patients in the ACT group and the standard therapy group

Показатель синдрома эндогенной интоксикации	Группа антицитокиновой терапии (n = 28)			Группа стандартной терапии (n = 75)		Группа сравнения (n = 30)
	До лечения	АЦТ, индукционный курс	АЦТ 8–10 лет	До лечения	На фоне лечения	
Суммарный метаболический пул (у. е.)	<b>5,00</b> <b>(4,47–6,26)*</b>	<b>4,64</b> <b>(3,67–5,89)*</b>	<b>2,79</b> <b>(2,04–4,69)#</b>	<b>5,28</b> <b>(3,66–6,72)*</b>	<b>5,10</b> <b>(2,86–5,89)*</b>	1,52 (0,93–4,56)
Окисленные адениловые нуклеотиды (у. е.)	<b>0,248</b> <b>(0,085–0,402)*</b>	<b>0,396</b> <b>(0,248–0,537)</b>	<b>0,043</b> <b>(0,010–0,071)#</b>	<b>0,176</b> <b>(0,083–0,348)*</b>	<b>0,170</b> <b>(0,059–0,312)*</b>	0,053 (0,027–0,139)

Примечание. \* –  $p < 0,05$  при сравнении групп пациентов с группой сравнения по критерию Манна – Уитни; # –  $p < 0,05$  при сравнении групп пациентов.

На фоне проведения стандартного лечения и терапии инфликсимабом после индукционного курса отмечается снижение показателей эндогенной интоксикации, но статистически значимое снижение отмечено только на фоне длительного применения поддерживающего курса АЦТ (табл. 1, 2).

Функциональная активность белковой части мембраны зависит от того, в какой форме организации находится липиды. Бислой не является единственно возможной организацией липидов в мембранах. В биологических мембранах могут присутствовать участки небислойной структуры подобно типам внутримембранных частиц «липидной природы», оказывающие влияние на функциональную активность мембран. Многие основные фосфолипиды мембраны могут образовывать агрегаты не только ламеллярной (бислойной) структуры, но и гексагональной с многослойными включениями. Присутствие в мембране локальных участков гексагональной фазы оказывает заметный эффект на процессы слияния мембраны, трансбислойное движение фосфолипидов, эндо- и экзоцитоз [12, 13].

Проведя анализ полученных данных (<sup>1</sup>H) ЯМР-спектрограмм на водородных ядрах, спектры распределены по молекулярной организации липидного бислоя на 4 типа: с преобладанием ламеллярной фазы, с преобладанием гексагональной фазы, с 50–60%-м содержанием фосфотидилхолина от общего содержания липидов, с содержанием фосфотидилхолина до 90 %.

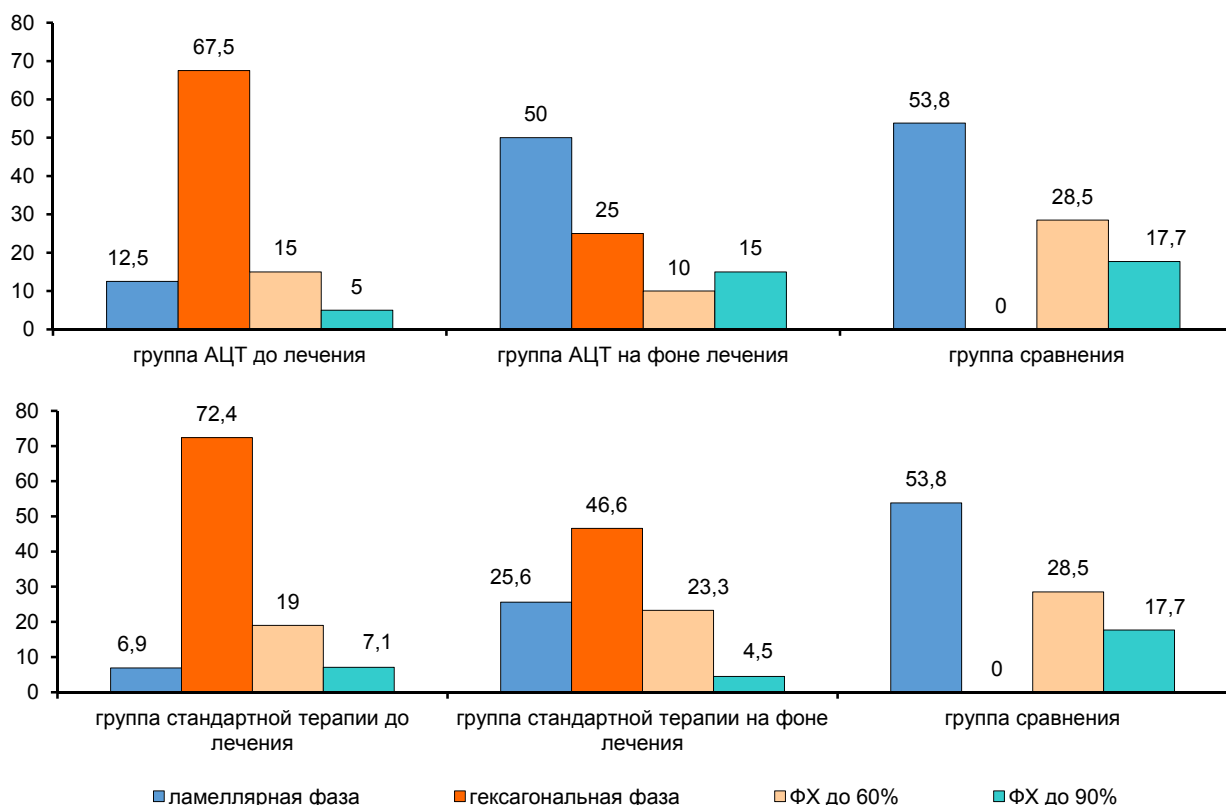
В период активного воспаления в обеих группах пациентов (как в группе АЦТ, так и группе стандартного

лечения) отмечалось преобладание гексагональной фазы организации клеточных мембран – 67,5 и 72,4 % (против 0 % в группе сравнения) и значимое снижение процентного соотношения в этих группах ламеллярной фазы организации – 12,5 и 6,9 % (против 58,3 % в группе сравнения), что свидетельствует о деструктивных изменениях в мембране эритроцита (рис. 1).

На фоне проводимого лечения в группе АЦТ по сравнению с группой стандартной терапии отмечено статистически значимое восстановление ламеллярной составляющей организации мембран – с 12,5 до 50 % и статистически значимое снижение процентного соотношения гексагональной фазы – с 67,5 до 25 %. Увеличение процентного содержания фосфотидилхолина в мембранах эритроцитов (с 5 до 15 %) у пациентов, получающих АЦТ, свидетельствует о процессах восстановления липидной компоненты клеточной мембраны и их функциональной активности на фоне применения биологической терапии.

Одним из основных условий нормальной жизнедеятельности эритроцита является поддержание и стабилизация внутриклеточного уровня макроэргов [14]. Значимые различия энергетического состояния клетки получены при оценке ЯМР-спектроскопии эритроцитов на фосфорных (<sup>31</sup>P) ядрах (табл. 3).

У пациентов в обеих группах по данным <sup>31</sup>P ЯМР-спектроскопии выявлено статистически значимое снижение уровня α-АТФ (АТФ), β-АТФ (АДФ), γ-АТФ (АМФ) и суммарного АТФ (ΣАТФ) по сравнению с группой практически здоровых волонтеров. Изменение



**Рис. 1.** Распределение типов водородного спектра эритроцитов в группах пациентов и группе сравнения.  
**Fig. 1.** Distribution of types of the red spectrum of the red blood cells in the patient groups and the comparison group.

*Показатели <sup>31</sup>P ЯМР-спектра эритроцитов у пациентов и группы сравнения*

*Таблица 3*

*Indicators of <sup>31</sup>P NMR spectrum of red blood cells in patients and comparison groups*

*Table 3*

Показатели макроэргов клетки	Группа антицитокинной терапии (n = 28)		Группа стандартной терапии (n = 75)		Группа сравнения (n = 30)
	До лечения	На фоне инфузий	До лечения	На фоне лечения	
НФ (%)	14,81 (11,00–17,54) *	12,65 (11,13–13,89)#	13,37 (10,72–16,76)	14,04 (11,08–15,79)*	12,31 (11,00–12,76)
2,3-ДФГ (%)	53,86 (50,61–55,37)*	57,79 (53,65–59,13) #	55,05 (50,47–59,13)	54,57 (49,27–58,61)	55,00 (54,35–56,64)
МФ (%)	2,65 (2,18–3,02)	2,59 (2,29–2,90)	2,36 (1,90–2,81)	2,35 (2,02–2,93)	2,36 (2,15–2,57)
α-АТФ (АТФ) (%)	13,08 (12,88–13,76)*	14,28 (13,76–14,51) #	13,54 (12,38–14,87)	13,96 (12,33–15,48)	14,09 (13,79–14,51)
β-АТФ (АДФ) (%)	4,62 (3,30–5,32) *	4,78 (3,68–6,04)* *	5,39 (4,44–6,40) *	5,58 (4,83–6,36)*	6,00 (5,68–6,21)
γ-АТФ (АМФ) (%)	8,82 (8,18–9,12) *	8,56 (7,47–9,79)* *	9,26 (8,17–10,13) *	9,25 (8,29–10,66)*	9,70 (9,40–10,69)
ΣАТФ (%)	26,91 (23,81–29,05)*	29,99 (26,67–30,57)* * #	28,71 (25,58–31,19) *	29,37 (26,24–32,59)	30,00 (29,64–31,72)
Энергетический заряд (e)	0,586 (0,574–0,598)*	0,594 (0,582–0,605)* *	0,579 (0,568–0,588)	0,573 (0,568–0,582)*	0,572 (0,556–0,584)

**Примечание.** \* –  $p < 0,05$  при сравнении групп пациентов с группой сравнения по критерию Манна – Уитни; # –  $p < 0,05$  при сравнении групп пациентов между собой по критерию Манна – Уитни; \* –  $p < 0,05$  при сравнении групп пациентов до лечения и в процессе лечения по критерию Вилкоксона.

содержания пула аденилатов свидетельствует о дисбалансе окислительно-восстановительных процессов в клетке и, как следствие, изменении энергетического заряда эритроцита. По данным Ф.И. Атауллаханова, варьирование и разброс концентраций АТФ и связанное с ним изменение пула аденилатов в клетке возникает не случайно, а вследствие дополнительной регуляции ионных насосов, направленных на стабилизацию кле-

точного объёма (т. к. окислительный стресс приводит к росту проницаемости клеточной мембраны эритроцита) [15, 16].

При оценке показателей энергетического обмена клетки у пациентов с тяжёлым течением ЯК на фоне применения инфликсимаба отмечена тенденция к восстановлению показателей энергообмена в мембране эритроцита (статистически значимое снижение уровня

Таблица 4

Результаты динамической гамма-сцинтиграфии почек в группе АЦТ до начала проведения инфузий инфликсимаба и на фоне инфузий

Table 4

Results of dynamic gamma-scintigraphy of kidneys in the ACT group before infliximab infusions and during infusions

	Левая почка				Правая почка			
	Экскрет. функция до АЦТ (n = 28)	Экскрет. функция на фоне АЦТ (n = 28)	Секрет. функция до АЦТ (n = 28)	Секрет. функция на фоне АЦТ (n = 28)	Экскрет. функция до АЦТ (n = 28)	Экскрет. функция на фоне АЦТ (n = 28)	Секрет. функция до АЦТ (n = 28)	Секрет. функция на фоне АЦТ (n = 28)
Нарушений не выявлено	10,7 % (3)	41,4 % (12)	<b>35,7 % (10)</b>	62,1 % (18)	<b>17,9 % (5)</b>	34,5 % (10)	34,5 % (10)	48,3 % (14)
Незначительные нарушения	0 % (0)	6,9 % (2)	0 % (0)	17,2 % (5)	17,9 % (5)	6,9 % (2)	6,9 % (2)	20,7 % (6)
Умеренно выраженные нарушения	25 % (7)	41,4 % (12)	<b>28,6 % (8)</b>	20,7 % (6)	10,7 % (3)	44,8 % (13)	44,8 % (13)	20,7 % (6)
Выраженные нарушения	<b>35,7 % (10)</b>	10,3 % (3)	<b>7,1 % (2)</b>	0 % (0)	<b>28,6 % (8)</b>	13,8 % (4)	13,8 % (4)	10,3 % (3)
Резко выраженные нарушения	<b>28,6 % (8)</b>	<b>0 % (0)</b>	<b>28,6 % (8)</b>	<b>0 % (0)</b>	<b>25 % (7)</b>	<b>0 % (0)</b>	<b>0 % (0)</b>	<b>0 % (0)</b>

Таблица 5

Показатели динамической гамма-сцинтиграфии почек

Table 5

Indicators of dynamic gamma scintigraphy of the kidneys

Анализируемые группы	T <sub>max</sub> левой почки	T <sub>max</sub> правой почки	T <sub>1/2</sub> левой почки	T <sub>1/2</sub> правой почки	Эффективный плазмоток левой почки	Эффективный плазмоток правой почки
Группа АЦТ до инфузий инфликсимаба (n = 28)	<b>8,9</b> (4,7–12,5)*	<b>9,65</b> (5,9–17,4)*	<b>13,0</b> (10,8–18,0)*	<b>15,4</b> (10,3–16,1)*	<b>115,4</b> (85,3–180,4)*	<b>149,3</b> (118,0–205,1)*
Группа АЦТ на фоне инфузий инфликсимаба (n = 28)	<b>6,0</b> (5,0–7,0)*	<b>8,0</b> (5,0–10,0)*	9,6 (6,9–10,2)**	8,9 (5,8–13,8)**	196,4 (170,5–259,2)**	182,7 (135,6–219,3)**
Группа сравнения (n = 10)	4,0 (4,0–4,3)	4,0 (4,0–5,0)	7,1 (6,3–8,0)	6,2 (5,5–8,2)	219,8 (194,3–272,9)	244,5 (205,2–301,5)

Примечание. \* – p < 0,05 при сравнении групп пациентов с группой сравнения по критерию Манна – Уитни; \*\* – p < 0,05 при сравнении групп пациентов до лечения и в процессе лечения по критерию Вилкоксона.

неорганического фосфата, повышение содержания 2,3-дифосфоглицерата, увеличение уровня АТФ).

Снижение уровня АТФ обуславливает увеличение жёсткости клеточной мембраны, при этом нарушается деформируемость эритроцита, т. е. снижается его способность изменять свою конфигурацию [12, 15, 16].

Выявлена значимая обратная корреляционная зависимость (r = -0,49; p < 0,01) между уровнем суммарного АТФ и имеющим место у пациентов анизоцитозом (в группе антицитотоксической терапии ЯК, до лечения 15,1 % (13,7–17,9 %) против 12,9 % (12,6–13,1 %) в группе сравнения (p < 0,001). Значимое снижение уровня анизоцитоза у пациентов группы АЦТ отмечается после 9–13 инфузий ремикейда 13,8 % (13,5–14,4 %), в этот же период наблюдается достижение показателей общего анализа крови до референсных значений.

Одним из основных органов детоксикации и поддержания гомеостаза являются почки, в основе функций которых лежат процессы жизнеобеспечения макроорганизма: ультрафильтрация жидкости в почечных клубочках, реабсорбция и секреция различных веществ клетками почечных канальцев, избирательное удаление различных соединений с целью поддержания относительного постоянства состава плазмы крови и внеклеточной жидкости.

Известно, что нефроны способны накапливать и секретировать в просвет канальцев несвойственные соединения токсического характера (не подвергшиеся

биотрансформации в соответствующий органах и системах). Длительное увеличение пула средномолекулярных веществ способствует повреждающему действию аккумулярованных токсичных соединений на клетки канальцев и может приводить к их гибели. Полученные ранее данные УФ-спектроскопии мочи у наших пациентов свидетельствуют о функциональной несостоятельности почек, проявляющейся в нарушении их экскреторной функции [17].

Для подтверждения субклинического раннего нарушения функционального состояния почек проведена динамическая гамма-сцинтиграфия с оценкой эффективного почечного плазмотока до лечения и на фоне длительного применения АЦТ.

Согласно полученным результатам исследования, нарушения экскреторной и секреторной функций почек разной степени выраженности отмечались в половине случаев.

Обращает внимание более высокий процент выраженных и резко выраженных нарушений секреторной и экскреторной функций почек у пациентов группы АЦТ до лечения, возможно, это обусловлено более тяжёлыми, резистентными формами заболевания у пациентов этой группы. На фоне проведения инфузий инфликсимаба процент резко выраженных изменений секреторной и экскреторной функции значительно снижается (табл. 4).

При статистической обработке основных показателей, используемых для оценки секреторной (T<sub>max</sub>) и экс-

креторной функции почек ( $T_{1/2}$ ), получены статистически значимые изменения в группе АЦТ до лечения ( $T_{\max}$  и  $T_{1/2}$ ), что характеризует нарушение секреторной и экскреторной функции почек и статистически значимое снижение эффективного плазмотока. На фоне проведенных инфузий инфликсимаба отмечается статистически значимое улучшение показателей секреторной и экскреторной функций почек (снижение показателей  $T_{\max}$ ,  $T_{1/2}$ ) и увеличение эффективного почечного плазмотока (табл. 5).

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Долгосрочное применение блокаторов TNF- $\alpha$  препаратом инфликсимаб у пациентов с резистентными к стандартной терапии тяжёлыми и среднетяжёлыми формами язвенного колита способствует нормализации показателей эндогенной интоксикации, стабилизации энергообмена клетки, с восстановлением ламеллярной организации билипидного слоя клеточных мембран и улучшению показателей функционального состояния почек. Выявленные метаболические процессы в мембране клеток ведут, вероятно, к пониманию патогенеза язвенного колита, что, несомненно, требует дальнейшего изучения и осмысления. Полученные результаты свидетельствуют о возможности длительного, безопасного и эффективного применения инфликсимаба у этой категории пациентов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Горохова В.Г., Кузнецова Э.Э., Пак В.Е., Григорьев Е.Г. Повреждение клеточных мембран у пациентов с язвенным колитом. *Колопроктология*. 2010; 2(32): 30-35.
2. Billiet T, Rutgeerts P, Ferrante M, Assche GV, Vermeire S. Targeting TNF- $\alpha$  for the treatment of inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2014; 14(1): 75-101. doi: 10.1517/14712598.2014.858695
3. Bortlik M, Duricova D, Machkova N, Hruby V, Lukas M, et al. Discontinuation of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease patients: a prospective observation. *Scand J Gastroenterol*. 2016; 51(2): 196-202. doi: 10.3109/00365521.2015.1079924
4. Bots SJ, Kuin S, Ponsioen CY, Gecse KB, Duijvestein M, D'Haens GR, Löwenberg M. Relapse rates and predictors for relapse in a real-life cohort of IBD patients after discontinuation of anti-TNF therapy. *Scand J Gastroenterol*. 2019; 54(3): 281-288. doi: 10.1080/00365521.2019.1582693
5. Gisbert JP, Marín AC, Chaparro M. The risk of relapse after anti-TNF discontinuation in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2016; 111(5): 632-47. doi: 10.1038/ajg.2016.54
6. Molander P, Färkkilä M, Kempainen H, Blomster T, Jussila A, Mustonen H, Sipponen T. Long-term outcome of inflammatory bowel disease patients with deep remission after discontinuation of TNF $\alpha$ -blocking agents. *Scand J Gastroenterol*. 2017; 52(3): 284-290. doi: 10.1080/00365521.2016.1250942
7. Ricciuto A, Dhaliwal J, Walters TD, Griffiths AM, Church PC. Clinical outcomes with therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 2018; 12(11). doi: 10.1093 / ecco-jcc / jyy109
8. Малахова М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме. *Эфферентная терапия*. 2000; 6(4): 3-4.
9. Кручинина М.В., Курилович С.А., Паруликова М.В. и др. ЯМР-спектроскопия эритроцитов у больных с патологией печени. *Эксперим. и клин. гастроэнтерология, приложение «Гепатология»*. 2003; (2): 28-33.
10. Лишманова Ю.Б., Чернова В.И. *Радионуклидная диагностика для практических врачей*. Томск, 2004.

11. Коротаева Н.С. Выбор лечебной тактики при тяжёлом течении язвенного колита с учётом закономерностей развития синдрома эндогенной интоксикации: Дисс. кан. мед. наук: 14.00.27, 14.00.16. Иркутск, 2009; 149 с.
12. Мухомедзянова С.В., Пивоваров Ю.И., Богданова О.В., Дмитриева Л.А., Шулунов А.А. Липиды биологических мембран в норме и патологии (обзор литературы). *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5)-1.
13. Фаллер Д.М., Шилдс Д. *Молекулярная биология клетки/пер. с англ.* М.: Бином-Пресс, 2006; 256 с.
14. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степанова Е.А. и др. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма; контуры проблемы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2006; (2): 62-70.
15. Атауллахманов Ф.И., Бутылин А.А., Витвицкий В.М., Лисовская И.Л., Мартынов М.В. и др. Физическая биохимия крови: от описания к пониманию. *Гематология и трансфузиология*. 2008; 53(5): 42-49.
16. Arashiki N, Takakuwa Y. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions. *Curr Opin Hematol*. 2017; 24(3): 167-172. doi: 10.1097/MOH.0000000000000326
17. Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Богородская С.Л. Способ оценки функционального состояния почек при аутоиммунных заболеваниях. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(5): 286-288.

#### REFERENCES

1. Chashkova EYu, Korotayeva NS, Gorophova VG, Kusnetsova EE, Pak VE, Grigoryev EG. Cell membrane damage in patients with ulcerative colitis. *Koloproktologiya*. 2010; 2(32): 30-35. (In Russ.)
2. Billiet T, Rutgeerts P, Ferrante M, Assche GV, Vermeire S. Targeting TNF- $\alpha$  for the treatment of inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther*. 2014; 14(1): 75-101. doi: 10.1517/14712598.2014.858695
3. Bortlik M, Duricova D, Machkova N, Hruby V, Lukas M, et al. Discontinuation of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease patients: a prospective observation. *Scand J Gastroenterol*. 2016; 51(2): 196-202. doi: 10.3109/00365521.2015.1079924
4. Bots SJ, Kuin S, Ponsioen CY, Gecse KB, Duijvestein M, D'Haens GR, Löwenberg M. Relapse rates and predictors for relapse in a real-life cohort of IBD patients after discontinuation of anti-TNF therapy. *Scand J Gastroenterol*. 2019; 54(3): 281-288. doi: 10.1080/00365521.2019.1582693
5. Gisbert JP, Marín AC, Chaparro M. The risk of relapse after anti-TNF discontinuation in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*. 2016; 111(5): 632-47. doi: 10.1038/ajg.2016.54
6. Molander P, Färkkilä M, Kempainen H, Blomster T, Jussila A, Mustonen H, Sipponen T. Long-term outcome of inflammatory bowel disease patients with deep remission after discontinuation of TNF $\alpha$ -blocking agents. *Scand J Gastroenterol*. 2017; 52(3): 284-290. doi: 10.1080/00365521.2016.1250942
7. Ricciuto A, Dhaliwal J, Walters TD, Griffiths AM, Church PC. Clinical outcomes with therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel disease: a systematic review with meta-analysis. *J Crohns Colitis*. 2018; 12(11). doi: 10.1093 / ecco-jcc / jyy109
8. Malakhova MYa. Endogenous intoxication as a reflection of the compensatory restructuring of metabolic processes in the body. *Efferentnaya terapiya*. 2000; 6(4): 3-4. (In Russ.)
9. Kruchina MV, Kurilovich SA, Parulikova MV, et al. Erythrocyte NMR spectroscopy in patients with liver disease. *Eksperim. i klin. gastroenterologiya, prilozhenie «Gepatologiya»*. 2003; (2): 28-33. (In Russ.)
10. Lishmanova YuB, Chernova VI. *Radionuclide diagnostics for practitioners*. Tomsk, 2004. (In Russ.)
11. Korotayeva NS. The choice of therapeutic tactics for severe ulcerative colitis, taking into account the patterns of development of endogenous intoxication syndrome: Dissertation

thesis of Candidate of Medical Sciences. Irkutsk, 2009; 149 p. (In Russ.)

12. Mukhomedzyanova SV, Pivovarov Yul, Bogdanova OV, Dmitrieva LA, Shulunov AA. Lipids of biological membranes in norm and pathology (literature review). *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5)-1. (In Russ.)

13. Faller DM, Shilds D. *Molecular cell biology*. Moscow: Bi-nom-Press, 2006; 256 p. (In Russ.)

14. Novitskiy VV, Ryazantseva NV, Stepanova EA, et al. Molecular abnormalities of the erythrocyte membrane in pathologies of different genesis are a typical reaction of the body; contours of the problem. *Bülleten' sibirskoj mediciny*. 2006; (2): 62-70. (In Russ.)

15. Ataullakhmanov FI, Butylin AA, Vitvitskiy VM, Lisovskaya IL, Martynov MV, et al. Physical biochemistry of blood: from description to understanding. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2008; 53(5): 42-49. (In Russ.)

16. Arashiki N, Takakuwa Y. Maintenance and regulation of asymmetric phospholipid distribution in human erythrocyte membranes: implications for erythrocyte functions. *Curr Opin Hematol*. 2017; 24(3): 167-172. doi: 10.1097/MOH.0000000000000326

17. Kuznetsova EE, Gorokhova VG, Chashkova EYu, Korotayeva NS, Bogorodskaya SL. A method for assessing the functional state of the kidneys in autoimmune diseases. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2016; 61(5): 286-288. (In Russ.)

#### Сведения об авторах

**Чашкова Елена Юрьевна** – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научного отдела клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; врач-колопроктолог, ГБУЗ Иркутская область «Знак Почёта» областная клиническая больница, e-mail: elenachash1027@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7953-6523>

**Коротаяева Наталья Сергеевна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник научного отдела клинической хирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; врач-колопроктолог, ГБУЗ Иркутская область «Знак Почёта» областная клиническая больница, <http://orcid.org/0000-0002-0880-9897>

**Кузнецова Эмма Эфраимовна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», <http://orcid.org/0000-0001-8619-179X>

**Горохова Виктория Григорьевна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», <http://orcid.org/0000-0001-6319-1615>

**Соболева Эльвира Валерьевна** – врач-радиолог лаборатории радиоизотопной диагностики, ГБУЗ Иркутская область «Знак Почёта» областная клиническая больница

#### Information about the authors

**Elena Yu. Chashkova** – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Scientific Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Coloproctologist, Irkutsk Regional Clinical Hospital, e-mail: elenachash1027@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7953-6523>

**Natalia S. Korotayeva** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Scientific Department of Clinical Surgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Coloproctologist, Irkutsk Regional Clinical Hospital, <http://orcid.org/0000-0002-0880-9897>

**Emma E. Kunetsova** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, <http://orcid.org/0000-0001-8619-179X>

**Viktoria G. Gorokhova** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, <http://orcid.org/0000-0001-6319-1615>

**Elvira V. Soboleva** – Radiologist at the Laboratory of Radionuclear Diagnostics, Irkutsk Regional Clinical Hospital

Статья получена: 17.07.2019. Статья принята: 3.09.2019. Статья опубликована: 26.10.2019.

Received: 17.07.2019. Accepted: 3.09.2019. Published: 26.10.2019.