

DOI: <https://doi.org/10.51922/2616-633X.2023.7.2.2000>

ПЕРСПЕКТИВЫ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В ИЗУЧЕНИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ У ПАЦИЕНТОВ КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

А.А. Бируля^{1,2}, М.И. Казакова^{1,3}, Г.Б. Мельникова⁴, Е.Б. Петрова^{1,2}, С.А. Чижик⁴, Н. П. Митьковская^{1,2}Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет» г. Минск, Республика Беларусь¹Республиканский научно-практический центр «Кардиология»²Республиканский клинический медицинский центр Управления делами Президента Республики Беларусь³Государственное научное учреждение «Институт тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси»⁴

koloboma@list.ru

УДК 612.17-092-08-07:620.187

Ключевые слова: микроциркуляция, ишемическая болезнь сердца, атеросклеротическая бляшка, форменные элементы крови.**ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ.** А.А. Бируля, М.И. Казакова, Г.Б. Мельникова, Е.Б. Петрова, С.А. Чижик, Н. П. Митьковская. Перспективы атомно-силовой микроскопии в изучении патологических процессов у пациентов кардиологического профиля. *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*, 2023, Т. 7, № 2, С. 2000–2008.

Во всем мире вопросу изучения фундаментальных клеточных процессов посвящены многочисленные изыскания. Развитие новых методов исследований с высокой разрешающей способностью сделало возможным изучение патологических процессов на микро- и наноруровне. Атомно-силовая микроскопия – один из перспективных методов получения качественной и количественной информации о патологических состояниях, основанный на анализе топографии поверхности (размеров, шероховатости) и локальных механических свойств (модуля упругости, силы адгезии,

трибологических характеристик) структурных элементов клеток и тканей. В статье кратко описан принцип работы метода и возможности его применения в различных областях медицины (терапии, онкологии, офтальмологии, трансфузиологии, стоматологии и др.). Подробно представлена роль форменных элементов крови (эритроциты, тромбоциты) в патогенезе заболеваний у пациентов кардиологического профиля. Рассмотрены возможности метода в изучении характеристик атеросклеротической бляшки в коронарных артериях на разных этапах атерогенеза.

PROSPECTS OF ATOMIC FORCE MICROSCOPY IN STUDYING PATHOLOGICAL PROCESSES IN CARDIOLOGICAL PATIENTS

А.А. Birulya^{1,2}, М.И. Kazakova^{1,3}, G.B. Melnikova⁴, E.B. Petrova^{1,2}, S.A. Chizhik⁴, N.P. Mitkovskaya^{1,2}Belarusian State Medical University, Belarus, Minsk¹Scientific and practical centre «Cardiology»²Republican Clinical Medical Center of the Presidential Administration of the Republic of Belarus³A.V. Luikov Heat and Mass Transfer Institute of the National Academy of Sciences of Belarus⁴**Key words:** microcirculation, ischemic heart disease, atherosclerotic plaque, blood cells.**FOR REFERENCES.** A.A. Birulya, M.I. Kazakova, G.B. Melnikova, E.B. Petrova, S.A. Chizhik, N.P. Mitkovskaya. Prospects of atomic force microscopy in studying pathological processes in cardiological patients. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2023, vol. 7, no. 2, pp. 2000–2008.

Numerous studies have been devoted to the study of fundamental cellular processes all over the world. The development of new research methods with high resolution has made it possible to study pathological processes at the micro and nanoscale. Atomic force microscopy is one of the promising methods for obtaining qualitative and quantitative information about pathological conditions, based on the analysis of surface topography (dimensions, roughness) and local mechanical properties (modulus of elasticity, adhesion strength,

tribological properties) of structural elements of cells and tissues. The article briefly describes the principle of operation of the method and the possibilities of its application in various fields of medicine (therapy, oncology, ophthalmology, transfusiology, dentistry, etc.). The role of shaped blood elements (erythrocytes, platelets) in the pathogenesis of cardiological diseases is presented in detail. The possibilities of the method in studying the characteristics of atherosclerotic plaque in coronary arteries at different stages of atherogenesis are considered.

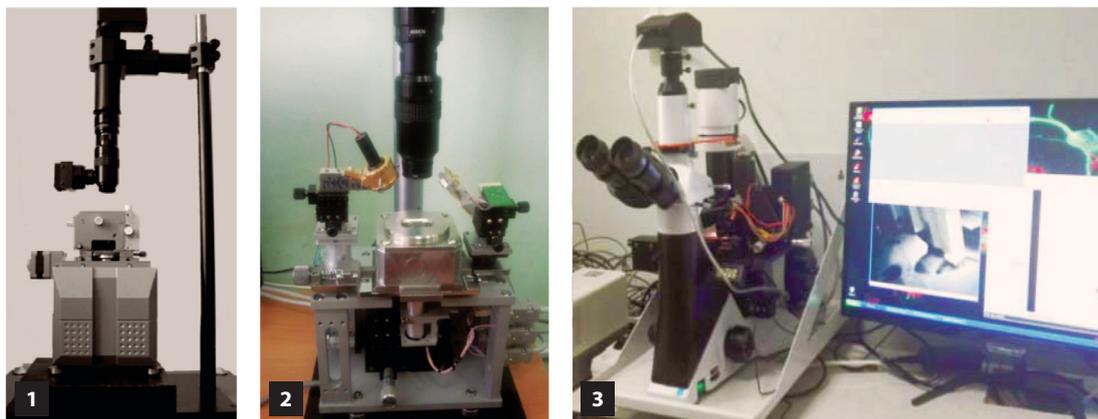


Рисунок 1. Атомно-силовой микроскоп NT-206 (ОДО «Микротестмашины», Республика Беларусь) для проведения исследований на воздухе (1); многофункциональные комплексы для анализа биологических клеток *in vitro*, разработанные в Институте тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова НАН Беларуси (2, 3)

Figure 1. Atomic force microscope NT-206 (Microtest Machines ODO, Republic of Belarus) for conducting research in air (a); multifunctional complexes for the analysis of biological cells *in vitro*, developed at the A.V. Lykov Institute of Heat and Mass Transfer of the National Academy of Sciences of Belarus (2, 3)

История развития медицины неразрывно связана с научно-техническим прогрессом. В частности, совершенствование методов исследования открывает новые возможности как для понимания патологических процессов, лежащих в основе заболевания, так и для практической медицины. Развитие и дальнейшее усовершенствование микроскопических методов исследований открыло новые возможности в изучении патогенеза заболеваний.

Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – один из современных высокотехнологичных методов исследования, обеспечивающих получение уникальной информации о структурных элементах биологических макрообъектов на наноуровне в среде воздуха, а также проведение анализа протекающих фундаментальных клеточных процессов в режиме реального времени (изменение цитоскелета клеток и др.), благодаря инструментальной возможности метода получать информацию в жидкой среде при минимальной фиксации объектов (рисунок 1). В жидких средах исследуют клетки в живом (нативном) состоянии или после слабой химической фиксации (например, разбавленным раствором глутарового альдегида с концентрацией ме-

нее 0,5% и временем воздействия несколько минут). Химическую фиксацию используют в том случае, если клетки являются чувствительными к механическому воздействию острой АСМ-зонды при сканировании [1, 2].

Принцип работы АСМ основан на взаимодействии зонда кантилевера с поверхностью образца. Регистрируется отклонение зонда от поверхности на основании смещения луча лазера относительно фотодиода. Величина отклонения зависит от силы взаимодействия зонда с поверхностью образца (притяжения и отталкивания). На основе полученных данных формируется информация в контактном и динамическом режимах работы о морфологии (размеры объектов), структуре (наношероховатость, масштабные параметры структурных элементов клеточной мембраны) и физико-механических свойствах (модуль упругости, сила адгезии, коэффициент и сила трения, электрические и магнитные свойства поверхности и др.) клеточной поверхности (рисунок 2). Анализ комплекса полученных данных дает возможность спрогнозировать функциональные нарушения и развитие патологических процессов.

Области применения АСМ в современной биотехнологии и медицине достаточно

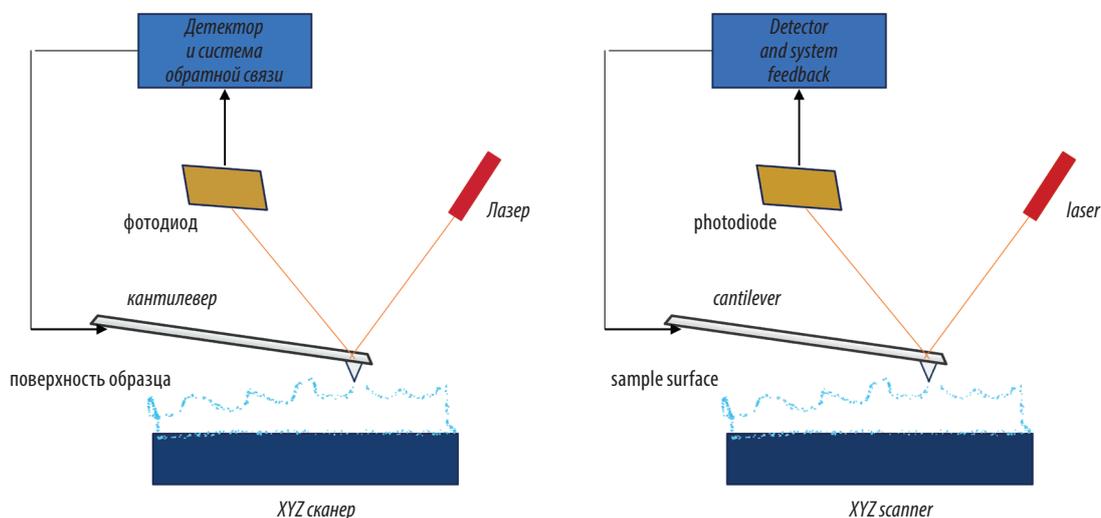


Рисунок 2. Принцип работы атомно-силового микроскопа

Figure 2. Operating principle of an atomic force microscope

разнообразны. На сегодняшний день получены АСМ-изображения белков, нуклеиновых кислот, ДНК, РНК, бактерий, вирусов, раковых клеток, структурных элементов костных и мышечных тканей, органоидов, кожи и органов [3, 4, 5].

Анализируется воздействие различных химических агентов на структуру и свойства имплантантов. Так, в работе Гайдаша А. А. и соавторов, проведено исследование воздействия различных сшивающих агентов на структуру коллагеновых волокон перикардов на примере исходного биопротеза «Биокард», и образцов биопсированного перикарда пациентов без патологических изменений. С использованием АСМ показано, что основой модифицирующего воздействия диглицидиловых эфиров этиленгликоля на перикард являются сшивки, которые образуют плотную сеть пластифицированных стяжек с тонковолокнистой структурой (рисунок 3). Диглицидиловые эфиры этиленгликоля вызывают в микроструктуре перикардов комплекс политопных структурно-механических сдвигов, увеличивающих вероятность постимплантационных осложнений и способных существенно уменьшить долговечность трансплантатов [6].

Структура и состав поверхностного слоя мембран клетки являются определяющими во взаимодействии поверхностей зонда и клетки [7, 8, 9]. С помощью АСМ изучают, как правило, не популяции или слои клеток, а отдельные клетки и молекулы. На уровне отдельных клеток выявляют неоднородность структуры и механические свойства их поверхности. Проводят изучение влияния различных факторов (влияние лекарственных веществ, микро- и наночастиц различной природы, консервантов, температуры, магнитного и ионизирующих излучений, обезвоживания тканей) на изменение свойств биологических клеток *in vitro*. Полученные данные позво-

ляют дать предположение о развитии патологических процессов в организме, способствуют развитию новых перспективных методов диагностики и терапии заболеваний человека [10, 11, 12].

АСМ имеет потенциал для использования в качестве инструмента для исследования ультраструктуры и механических свойств опухолевых клеток. Так, например, исследования в онкологии показали, что у опухолевидных клеток значения силы адгезии и модуль упругости мембраны ниже, по сравнению с обычными [13, 14].

В стоматологии, изучается зубная поверхность, подверженная кариозному поражению, для улучшения методов профилактики [15].

Данный метод нашел свое применение в трансплантологии, позволяя улучшить качество и биологическую совместимость как уже существующих, так для разработки новых трансплантатов [16].

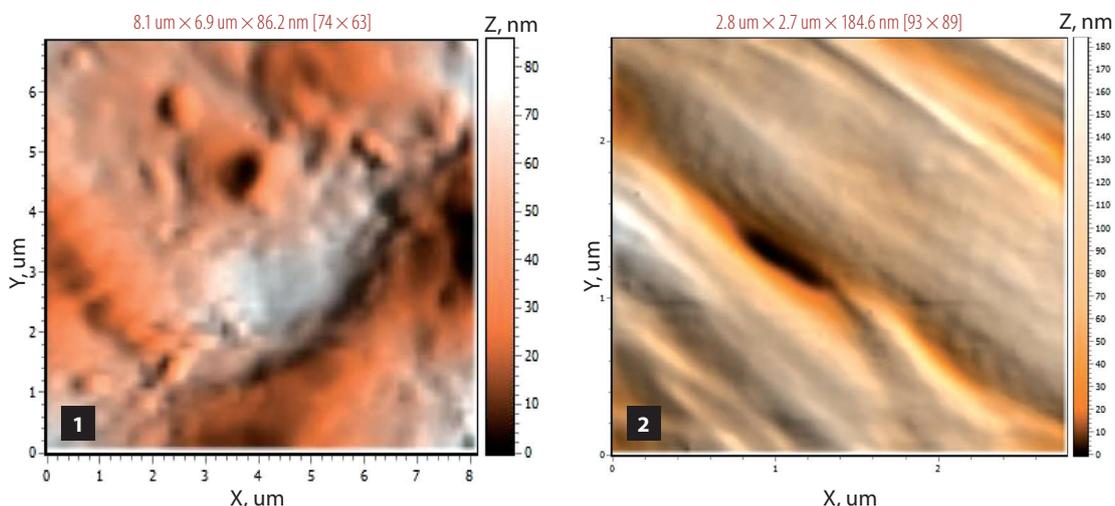
Информация о микроструктурных изменениях, полученная при исследовании методом АСМ дегенеративно-дистрофических процессов опорно-двигательного аппарата, нашла свое отражение в разработке новых методов лечения и профилактики [17].

АСМ нашла применение в изучении инфекционных процессов, в таких отраслях медицины как дерматология, пульмонология, офтальмология, неврология [18, 19, 20, 21, 22]. При развитии тяжелой фазы острого панкреатита в раннюю фазу, методом АСМ выявлены нарушения структурной организации нейтрофильного гранулоцита, увеличение объема и снижение силы адгезии мембраны клетки [23].

В настоящее время методом АСМ изучают все форменные элементы крови, как наиболее легко доступный клинический материал для исследования, по изменению свойств которого можно судить о развитии большинства патологических процессов в организме.

Рисунок 3.
АСМ-изображение перикарда контрольной группы (1) и модифицированного диглицидиловым эфиром этиленгликоля (2)

Figure 3.
AFM image of the pericardium of the control group (1) and modified with ethylene glycol diglycidyl ether (2)



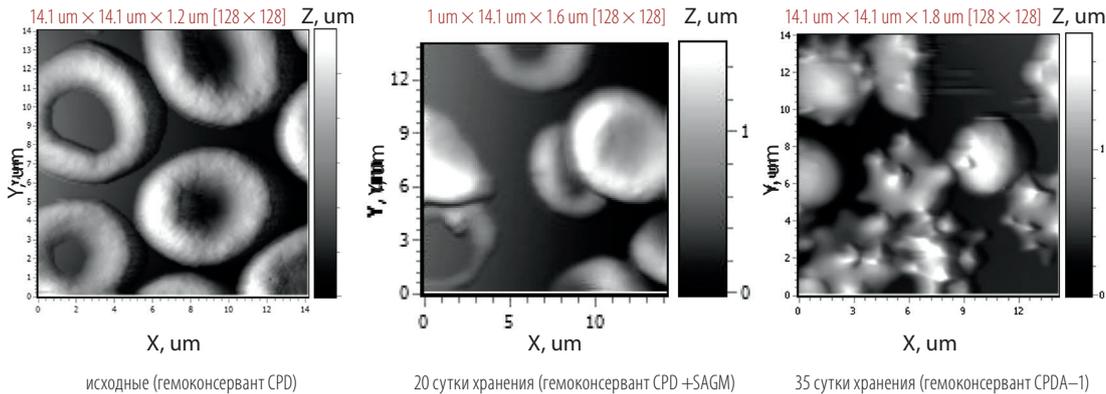


Рисунок 4.
АСМ-изображения эритроцитов на различных сроках хранения донорской крови

Figure 4.
AFM images of red blood cells at different storage periods of donated blood

В всем мире вопросу изучения фундаментальных клеточных процессов и получению уникальной информации о структурных элементах биологических макрообъектов на наноуровне посвящены многочисленные изыскания. В Республике Беларусь исследованиями структуры поверхности и мембран клеток активно занимаются ученые под руководством академика С.А. Чижика (ГНУ «Институт тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова НАН Беларуси»), академика Черенкевича С.Н. и к.б.н. Горудко И.В. (Белорусский государственный университет), д.б.н. Стародубцевой М.Г. (Гомельский государственный медицинский университет), к.ф.-м. Кухаренко Л.В. (Белорусский государственный медицинский университет) [12].

Развиваются теоретические и практические исследования в области контактной механики мембран биологических клеток (эритроциты, тромбоциты, раковые клетки, бактерии). Цикл оригинальных работ посвящен разработке методик на основе известных моделей (Герца, Hsueh-Miranda, Джонсона-Кенделла-Робертса) для определения локальных механических свойств и толщины мембран биологических объектов по данным статической силовой спектроскопии, учитывающие адгезионное взаимодействие в об-

ласти контакта кантилевера с поверхностью образца и жесткость подмембранного слоя. Получены карты локальных механических свойств мембраны эритроцитов и тромбоцитов. Показано, что значения модуля упругости и силы адгезии для клеточной мембраны не является постоянной величиной, а изменяется в зависимости от цитоскелета клетки, расположения структурных элементов мембраны и от изменения морфологии клетки [24, 25, 26, 27, 28].

В работе Г. Б. Мельниковой и соавторов, на основании изменения морфометрических параметров эритроцитов оценивали качество донорской крови на различных сроках хранения в трех типах консервантов [29]. Показано, что с увеличением срока хранения повышается количество сфероцитов и акантоцитов (рисунок 4).

АСМ-изображения позволяют сравнить морфологию эритроцитов (рисунок 5), а также оценить структурные особенности их мембран при некоторых заболеваниях, изучить цитоскелет эритроцитов [30, 31].

В работе Стародубцевой М.Н. представлены обобщенные данные об изменении морфометрических параметров и свойств эритроцитов при различных патологиях (таблица 1) [32].

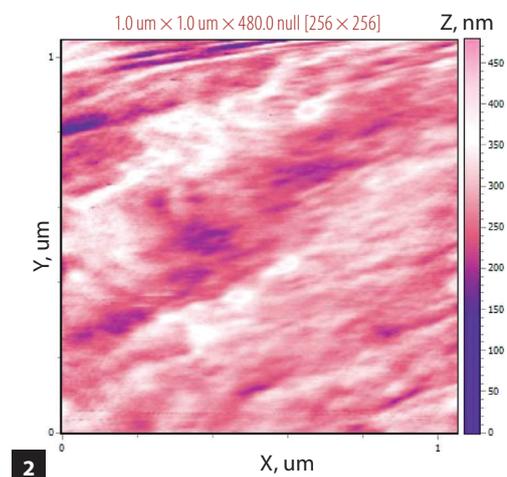
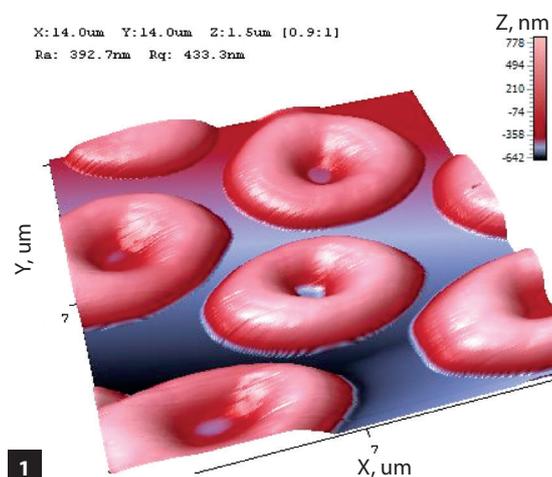


Рисунок 5.
АСМ-изображения топографии поверхности эритроцитов (1) мембраны эритроцитов (2)

Figure 5.
AFM images of the topography of erythrocyte surfaces (1) and the erythrocyte membrane surface (2)

Таблица 1.
Изменения ряда характеристик поверхности эритроцитов, полученных методом атомно-силовой микроскопии (АСМ), при различных патологических состояниях

Изменение АСМ-параметров	Патологические состояния	Источник Source Автор, год Author, year
Увеличение модуля Юнга	ГбФД-дефицитная анемия Подавление активности ГбФД Окислительный стресс, вызванный различными веществами	Dulinska, 2006 Zhang, 2017 Sinha, 2015
Уменьшение модуля Юнга и сил адгезии в разгаре заболевания	Внебольничная пневмония	Гельдр, 2017 Gelder, 2017
Увеличение коэффициента жесткости	Ревматоидный артрит	OlumuyiwaAkeredolu, 2017
Уширение распределения (гетерогенность) и тенденция к увеличению модуля Юнга	Наследственный сфероцитоз Талассемия	Dulinska, 2006
Уменьшение сил адгезии	Криоконсервирование под защитой 40% глицерина Внебольничная пневмония	Багаудинов, 2014 Bagaudinov, 2014 Гельдр, 2017 Gelder, 2017
Уменьшение шероховатости топографии	Наследственный сфероцитоз Диабет	Ying, 2016, Girasole, 2007 Bygs, 2013, Стародубцева, 2008 Starodubtseva, 2008
Увеличение шероховатости топографии	Гбфолиеводефицитная анемия Талассемия Железодефицитная анемия Действие гормонов стресса	Dulinska, 2006, Fang, 2015, 2017, Tang, 2015 Makherjee, 2014 Zhang, 2012 Makrushnikov, 2015
Изменение комплекса статистических и мультифрактальных параметров топографического изображения поверхности клетки	Гипертензия, облучение нейтронами	Talu, 2015
Уменьшение шероховатости карт механических свойств, увеличение фрактальной размерности карт	Цирроз печени	Стародубцева, 2015 Starodubtseva, 2015

Table 1.
Changes in a number of properties of the erythrocyte surface obtained by atomic force microscopy (AFM) in various pathological conditions

AFM parameters changes	Pathological conditions	Source Author, year
Increased Young's modulus	Suppression of G6FD activity Oxidative stress caused by various substances	Dulinska, 2006 Zhang, 2017 Sinha, 2015
Decreased Young's modulus and adhesion forces in the midst of the disease	Community-acquired pneumonia	Гельдр, 2017 Gelder, 2017
Increased stiffness ratio	Rheumatoid arthritis	OlumuyiwaAkeredolu, 2017
Broader distribution (heterogeneity) and increased Young's modulus pattern	Hereditary spherocytosis Thalassemia	Dulinska, 2006
Decreased adhesion forces	Cryopreservation under the protection of 40% glycerin Community-acquired pneumonia	Багаудинов, 2014 Bagaudinov, 2014 Гельдр, 2017 Gelder, 2017
Reduced topography roughness	G6FD-deficiency anemia Thalassemia Iron deficiency anemia The effect of stress hormones	Ying, 2016, Girasole, 2007 Bygs, 2013, Стародубцева, 2008 Starodubtseva, 2008
Increased topography roughness	Hypertension, neutron irradiation	Dulinska, 2006, Fang, 2015, 2017, Tang, 2015 Makherjee, 2014 Zhang, 2012 Makrushnikov, 2015
A changed set of statistical and multifractal parameters of the topographic image of the cell surface	Hypertension, neutron irradiation	Talu, 2015
Reduced roughness of maps of mechanical properties, increasing the fractal dimension of maps	Liver cirrhosis	Стародубцева, 2015 Starodubtseva, 2015

Одним из направлений исследований в кардиологии является изучение форменных элементов крови при различных патологических состояниях. Развитие патологии приводит к изменению формы, размеров клеток крови, и как следствие, к нарушению их функций [33].

Исследования эритроцитов показало следующие результаты. У пациентов с артериальной гипертензией снижается способность к деформации клеточной мембраны, наблюдается склонность к сфероцитозу, что в свою очередь, снижает площадь газообмена и затрудняет прохождение эритроцитов через капилляры. Это приводит к тому, что снижается микроциркуляция, а эритроциты вынуждены двигаться в обход по артериовенозным шунтам, что в свою очередь ведет к прогрессированию патологического состояния [34, 34].

В исследовании Guedes A.F. et al. с помощью атомно-силовой микроскопии установлено изменение взаимодействия между фибриногеном и эритроцитами у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. У пациентов с ишемией наблюдалась повышенная сила связывания фибриногена с эритроцитами по сравнению с пациентами без ишемии. Жесткость клеток в обеих группах пациентов также была изменена. 12-месячное наблюдение показало, что пациенты, у которых изначально наблюдалась более высокая сила связывания фибриногена с эритроцитами впоследствии чаще госпитализировались [36].

Ишемическая болезнь сердца (ИБС) является одной из ведущих причин заболеваемости и сердечно-сосудистой смертности во всем мире. Ежегодная смертность от ИБС в российской популяции составляет около 30%, при этом 42% от всех умерших в результате ИБС – лица трудоспособного возраста. Около 40–50% всех пациентов с ИБС знают о наличии у них заболевания и полу-

чают соответствующую терапию, тогда как в 50–60% случаев заболевание остается нераспознанным [37, 38, 39].

В совместных научных работах кафедры кардиологии и внутренних болезней УО «Белорусский государственный медицинский университет» под руководством заведующего кафедрой, доктора медицинских наук, профессора Митьковской Н.П. и ГНУ «Институт тепло- и массообмена имени А.В. Лыкова Национальной академии наук Беларуси» изучены морфологические особенности и упругие свойства эритроцитов и тромбоцитов у пациентов с ОКС, стабильной стенокардией напряжения и практически здоровых лиц. В работах Цапаевой Н.Л. и соавт. (2016 г.) [40] впервые установлено, что особенностью эритроцитов при ОКС является сниженный модуль упругости и высокая сила адгезии, а у тромбоцитов – увеличение модуля упругости и снижение силы адгезии. Данные изменения являются признаками дестабилизации и повреждения клеточных мембран при остром коронарном синдроме (ОКС) (рисунок 6).

Показано также, что при ОКС значительно повышается степень агрегации эритроцитов. Установлено, что у пациентов с ОКС в процессе восстановления коронарного кровотока различными способами уже на 10-е сутки лечения имеют место увеличение модуля упругости, уменьшение силы адгезии и степени агрегации эритроцитов и модуля упругости тромбоцитов. Установлена диагностическая значимость комплекса показателей: маркера фиброза миокарда ST2, показателя скорости агрегации эритроцитов (САЭ) и параметров АСМ, характеризующих упругие свойства клеточных мембран, в отношении прогнозирования исхода ОКС на госпитальном этапе и в течение года [41, 42].

Положительные изменения механических и функциональных свойств эритроци-

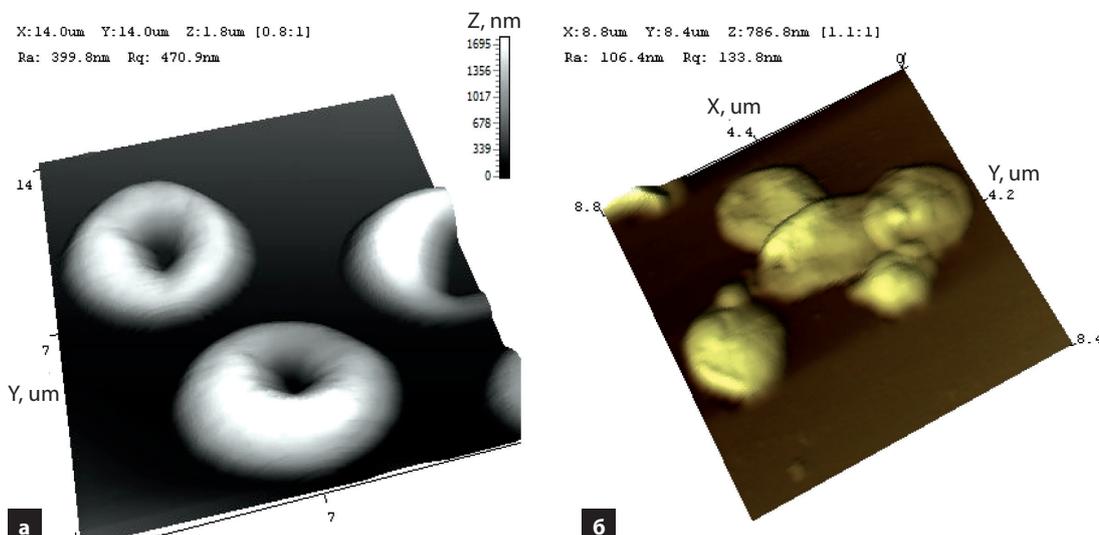


Рисунок 6. АСМ-изображения эритроцитов (а) и тромбоцитов (б) через 2 часа после ангинозного статуса у пациента с ОКС

Figure 6. AFM images of erythrocytes (a) and platelets (b) 2 hours after anginal status in a patient with ACS

тов на ультрафиолетовое воздействие наблюдалось при АСМ на фоне достоверного снижения концентрации биомаркера фиброза кардиомиоцитов ST2, экспрессируемого геном 2 [44, 44].

Благодаря использованию АСМ удалось более детально изучить многие механизмы тромбообразования. Так, например, сложившаяся доктрина, что изначально тромбоцит активируется, а потом происходит агрегация и прикрепление к месту повреждения, подверглась сомнению, так как тромбоцит «пролетает» над местом повреждения около 10 микросекунд, а время активации составляет от несколько секунд до минуты. Так же тромбоцит движется в кровотоке с большой скоростью, для нормальной фиксации ему необходимо ее быстро погасить и успеть прикрепиться к поврежденному участку. Чтобы погасить высокую скорость и не подвергнуться повреждению, тромбоцит цепляется за фактор фон Виллебранда, который слабо прикреплен к коллагену, за счет чего, при изначально высокой скорости тромбоцита, он может оторваться и прикрепиться к новому участку коллагена. Это похоже на торможение самолета, садящегося «на брюхе». Однако все равно остается много вопросов: сложная система сигнализации, регуляция и остановка роста тромбоза и так далее [46, 47, 48, 48].

Исследования тромбоцитов в области кардиологии с помощью АСМ выявили определенные закономерности. У пациентов с ишемической болезнью сердца, стабильной стенокардией и хронической сердечной недостаточностью увеличена адгезивная и агрегационная активность тромбоцитов. Причем у пациентов, в зависимости от тяжести болезни, изменялись и морфо-функциональные свойства тромбоцитов: чем тяжелее степень заболевания, тем их размеры и агрегационная и адгезивная активность были выше [499].

Важным направлением в изучении атеросклероза является изучение структуры атеросклеротических бляшек. В последние годы начали появляться исследования, посвященные изучению сосудистой стенки методом АСМ. Предложен новый подход к отслежива-

нию прогрессирования атеросклероза, основанный на методе АСМ. В исследовании Peter S. Timashev et al. изучался фиброзный слой атеросклеротической бляшки на разных этапах ее развития. Показано, что поверхностный слой атеросклеротической бляшки представлен плетеной сетью коллагеновых волокон и нижележащей сетью фибрилл, которые по мере прогрессирования атеросклероза становятся более рыхлыми. Установлено, что в нестабильной бляшке упаковка коллагеновых волокон и фибрилл становится еще менее однородной, в то время как стабильная бляшка имеет значительно более плотную упаковку. Можно предположить, что такие изменения коллагеновой сети приводят к ухудшению механических свойств атеросклеротической бляшки, что, в свою очередь, приводит к ее нестабильности и склонности к разрыву. Таким образом, в дополнение к данным на микроуровне (клетки, коллагеновые и эластичные волокна, неволоконный материал внеклеточного матрикса) АСМ предоставляет информацию на наноуровне (упаковка и структура коллагеновых фибрилл, тонкая структура коллагеновых волокон), которую невозможно оценить методами оптической микроскопии. АСМ может служить полезным инструментом для отслеживания прогрессирования атеросклероза в тканях артериальной стенки [50].

Выводы

Таким образом, атомно-силовая микроскопия является перспективным методом изучения механических и биофизических свойств структуры элементов клеток и тканей. Представленные в статье исследования демонстрируют возможности АСМ для оценки нанохарактеристик биологических объектов, которые позволяют дать новые представления о развитии патологических состояний, что позволит разработать новые подходы в лечении заболеваний.

Источник финансирования: нет.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

REFERENCES

- Nagornov Yu. S. eds. *Issledovanie kletok krovi pri pomoshchi atomno-silovoj mikroskopii* [Examination of blood cells using atomic force microscopy] : metod. rekomend. Tol'yatti: TGU, 2012. 18 p. (in Russian).
- Ando T. Biophysical reviews top: atomic force microscopy in biophysics. *Biophysical Reviews*, 2021, vol. 13, pp. 455–458.
- Drozdz E.S., Chizhik S.A., Kvitko O.V. *Issledovanie opuholevykh i immortal'nykh kletok metodom atomno-silovoj mikroskopii* [Study of tumor and immortal cells by atomic force microscopy]. *Teplo- i massoperenos – 2008: sb. nauch. tr. / In-t teplo- i massoobmena im. A.V. Lykova Nac. akad. nauk Belarusi; nauch. red. V.L. Dragun. Minsk, 2009. pp. 369–377.* (in Russian).
- Müller D.J., Dumitru A.C., Lo Giudice C., Gaub H.E., Hinterdorfer P., Hummer G., De Yoreo J.J., Dufrène Y.F., Alsteens D. Atomic force microscopy-based force spectroscopy and multiparametric imaging of biomolecular and cellular systems. *Chemical Reviews*, 2021, vol. 121, no. 19, pp. 11701–11725.
- Chizhik S.A., Trushko A.V., Vezhkholskij K. *Struktura i uprugie svoystva hryashcha na mikro- i nanourovne* [Structure and elastic properties of cartilage at the micro- and nano-level]. *Ros. zhurn. biomekhaniki*, 2008. vol. 12, no. 2 (40), pp. 13–22. (in Russian).
- Gajdash A.A., Drozdovskij K.V., Mel'nikova G.B., Kuznecova T.A., Chizhik S.A., Krut'ko V.K., Kulak A.I., Linnik Yu.I., Skrockaya K.V., Kazbanov V.V., Gurinovich T.A., Kanunnikova A.R.

- Skaniyushchaya zondovaya mikroskopiya perikardov, modifitsirovannyh diglicidilovym efrom etilenglikolya [Scanning probe microscopy of pericardium modified with diglycidyl ether of ethylene glycol]. *Novosti med.-biol. nauk*, 2018, vol. 18, no. 2, pp. 96–106. (in Russian).
7. Avetisov K.S., Bahchieva N.A., Frolova A.A., Yugaj N.M. Vozmozhnosti atomno-silovoy mikroskopii v izuchenii biomehaniki kapsuly hrustalika [Possibilities of atomic force microscopy in the study of biomechanics of the lens capsule]. *Vestnik sojeta molodyh uchyonnyh i specialistov Chelyabinskoy oblasti*, 2018, vol. 2, no. 3 (22), pp. 4–9. (in Russian).
 8. Kovalev S.V., Lazarev S.I., Kovaleva O.A. Issledovanie morfologii poverhnosti mikrofil'tracionnyh membran MFFK, MPS metodami atomno-silovoy i rastrovoj elektronnoy mikroskopii. Poverhnost' [Investigation of surface morphology of microfiltration membranes MFFK, MPS by methods of atomic force and scanning electron microscopy. Surface]. *Rentgenovskie, sinhrotronnye i neyronnye issledovaniya*, 2020, no. 7, pp. 52–61. (in Russian).
 9. Xia F., Youcef-Toumi K. Review: Advanced atomic force microscopy modes for biomedical research. *Biosensors*, 2022, no. 12, pp. 1116.
 10. Pérez-Domínguez S., Kulkarni S.G., Rianna C., Radmacher M. Atomic force microscopy for cell mechanics and diseases. *Neuroforum*, 2020, vol. 26, no. 2, pp. 101–109.
 11. Li M., Dang D., Liu L., Xi N., Wang Y. Atomic force microscopy in characterizing cell mechanics for biomedical applications. *IEEE transactions on nanobioscience*, 2017, vol. 16, no. 6, pp. 523–540.
 12. Shamova E.V., Gorudko I.V., Grigorieva D.V., Sokolov A.V., Kokhan A.U., Melnikova G.B., Yafremau N.A., Gusev S.A., Sveshnikova A.N., Vasilyev V.B., Cherenkevich S.N., Panasenko O.M. The effect of myeloperoxidase isoforms on biophysical properties of red blood cells. *Mol Cell Biochem*, 2020, vol. 464, no. 1–2, pp. 119–113.
 13. Morton K.C., Baker L.A. Atomic force microscopy-based bioanalysis for the study of disease. *Anal. Methods*, 2014, vol. 6, pp. 4932–4955.
 14. Starodubceva M.N. *Peroksininitrit v patologii i fiziologii kletok krovi* [Peroxyinitrite in blood cell pathology and physiology]. M.: Knizhnyj dom «LIBROKOM», 2011, 200 s. (in Russian).
 15. SHumilovich B.R., Vorob'eva YU.B., Malyhina I.E., Chertovskih A.V. Sovremennye predstavleniya o kristallicheskoj strukture gidroksiapatita i processah voznrastnyh izmenenij emali zuba (issledovanie in vitro) [Current understanding of the crystal structure of hydroxyapatite and processes of age-related changes in tooth enamel (in vitro study)]. *Zhurn. anatomii gistopatologii*, 2015, vol. 4, no. 1, pp. 77–86. (in Russian).
 16. Belyaev A.YU. Issledovanie svojstv poliuretana, ispol'zuemogo dlya proizvodstva biomolantantov, s pomoshch'yu sovremennyh eksperimental'nyh metodov s cel'yu uluchsheniya ekspluatcionnyh harakteristik [Investigation of the properties of polyurethane used for bioimplants production using modern experimental methods in order to improve performance characteristics]. *Issledovaniya: teoriya i eksperiment*, 2016, no. 4, pp. 5–10. (in Russian).
 17. Kabalyk M.A. Fizicheskie svojstva i osobennosti organizacii sustavnogo hryshcha pri osteoartrioze [Physical properties and features of articular cartilage organization in osteoarthritis]. *Dnevnik kazanskoy medicinskoj shkoly*, 2016, no. 4 (14), pp. 40–43.
 18. Nemova I.S., Falova O.E., Potaturkina-Nesterova N.I. Ispol'zovanie atomno-silovoy mikroskopii dlya issledovaniya citomorfologicheskix priznakov vozбудitel'nyh bakterial'nyh infekcij [Use of atomic force microscopy to study cytomorphologic features of bacterial pathogens]. *Byul. eksperim. biologii i mediciny*, 2015, vol. 160, no. 10, pp. 509–512. (in Russian).
 19. Gel'cer B.I., Kolesnikov V.N., Karpenko A.A., Kim A.P. Ul'trastrukturnaya harakteristika eritrocitov pri vnebo'lichnoj pnevmonii u lic molodogo vozrasta [Ultrastructural characterization of erythrocytes in community-acquired pneumonia in young adults]. *Voenn.-med. zhurn.*, 2017, vol. 338, no. 6, pp. 40–47. (in Russian).
 20. Nesterov A.S., Artamonova M.N., Nesterova A.V., Potaturkina-Nesterova N.I., Nemova I.S. Izmenenie morfometricheskix i uprugomekhanicheskix svojstv eritrocitov u bol'nyh psoriazom [Morphometric and elastic-mechanical properties of erythrocytes in patients with psoriasis]. *European journal of technical and natural sciences*, 2016, no. 3, pp. 31–34. (in Russian).
 21. Avetisov K.S., Bahchieva N.A., Frolova A.A., Yugaj N.M. Vozmozhnosti atomno-silovoy mikroskopii v izuchenii biomehaniki kapsuly hrustalika [Possibilities of atomic force microscopy in the study of biomechanics of the lens capsule]. *Vestn. sojeta molodyh uchyonnyh i specialistov Chelyabinskoy oblasti*, 2018, vol. 2, no. 3 (22), pp. 4–10. (in Russian).
 22. Belova L.A., Mashin V.V., Proshin A.N., Kostishko B.B. Vozdejstvie vazonita na strukturno-funkcional'noe sostoyanie citoplazmaticheskoj membrany eritrocitov bol'nyh s ishemeskim insul'tom [Effects of vazonite on the structural and functional state of the cytoplasmic membrane of erythrocytes of patients with ischemic stroke]. *Zhurn. neurology and psychiatry named after S.S. Korsakov*, 2015, vol. 115, no. 3, pp. 83–85. (in Russian).
 23. Pahomova R.A., Dunaevskaya S.S., Gulikyan G.N., Kozlov V.V. Izmeneniya immun-nogo statusa i citoarhitektoniki nejtrofil'nyh granulocitov pri razviii ostrogo nekroticheskogo pankreatita [Changes in immune status and cytoarchitectonics of neutrophil granulocytes during the development of acute necrotizing pancreatitis]. *Eksperim. i klin. gastroenterologiya*, 2022, vol. 8 (204), pp. 41–46. (in Russian).
 24. Drozd E.S., Pronkevich S.A., Chizhik S.A. Modelirovanie uprugogo vzaimodejstviya ostriya zonda atomno-silovogo mikroskopa s biologicheskoy kletkoj [Modeling of elastic interaction of atomic force microscope probe tip with a biological cell]. *Mekhanika mashin, mekhanizmov i materialov*, 2011, vol. 3 (16), pp. 64–66.
 25. Melnikova G.B., Petrovskaya A.S., Makhanev A.A., Chizhik S.A. Soft and heterogeneous surfaces characterization by mechanical properties map obtained with atomic force microscopy method. *Scanning probe microscopy*, 2018, vol. 443, pp. 1–4.
 26. Mohammed Salem A.A., Mel'nikova G.B., Mahanyok A.A., Chizhik S.A. Noveye sposoby obrabotki rezul'tatov nanoindentirovaniya metodom atomno-silovoy mikroskopii [New ways of processing nanoindentation results by atomic force microscopy]. *Vesti NAN Belarusi. Ser. fiz.-tekhn.*, 2014, no. 4, pp. 97–101. (in Russian).
 27. Mohammed Salem A.A., Mel'nikova G.B., Mahanyok A.A., Chizhik S.A. Metodicheskie aspekty opredeleniya modulya uprugosti vysokoelelastichnyh materialov i biologicheskix kletok metodom silovoj spektroskopii [Methodological aspects of determining the elastic modulus of highly elastic materials and biological cells by force spectroscopy]. *Mekhanika mashin, mekhanizmov i materialov*, 2015, no. 2 (31), pp. 80–84. (in Russian).
 28. Mel'nikova G.B., Kuzhel' N.S., Konstantinova E.E. *Postroenie kart zhestkosti dlya ocenki mekhanicheskix svojstv kletочноj membrany metodom atomno-silovoy mikroskopii* [Construction of stiffness maps for assessing mechanical properties of cell membrane by atomic force microscopy]. *Teplо- i massoperenos*, 2015. Minsk: Institut teplо- i massоobmena imeni A. V. Lykova NAN Belarusi, 2016. pp. 213–216. (in Russian).
 29. Mel'nikova G.B. [et al.] *Ocenka morfofunkcional'nogo sostoyaniya eritrocitov na razlichnyh srokah hraneniya eritrocitsozderzhashchix komponentov donorskoj krovi metodami inducirovannogo gemoliza i atomno-silovoy mikroskopii* [Assessment of morphofunctional state of erythrocytes at different storage periods of erythrocyte-containing components of donor blood by methods of induced hemolysis and atomic force microscopy]. *Teplо- i massoperenos*, 2017. Minsk: Institut teplо- i massоobmena imeni A. V. Lykova NAN Belarusi, 2018. pp. 297–307. (in Russian).
 30. Sergunova V., Leesment S., Kozlov A., Inozemtsev V., Platitsina P., Lyapunova S., Onufrievich A., Polyakov V., Sherstyukova E. Investigation of red blood cells by atomic force microscopy. *Sensors*, 2022, vol. 22, no. 5, pp. 1–13.
 31. Drozd E.S., Chizhik S.A., Konstantinova E.E. Atomno-silovaya mikroskopiya strukturno-mekhanicheskix svojstv membran eritrocitov [Atomic force microscopy of structural and mechanical properties of erythrocyte membranes]. *Ros. zhurn. biomehaniki*, 2009, vol. 13, no. 4 (46), pp. 22–30. (in Russian).
 32. Starodubceva M.N. Atomno-silovaya mikroskopiya kletok kak metod izucheniya patogenezа i osnova dlya razrabotki metodov diagnostiki zabolevanij [Atomic force microscopy of cells as a method of studying pathogenesis and a basis for developing methods of disease diagnostics]. *Problemy zdorov'ya i ekologii*, 2017, no. 4, pp. 99–106. (in Russian).
 33. Selimov M.A., Demchenkov E.L., Nagdalyan A.A., Gatina YU.S. Osobennosti issledovaniya morfologii anomal'nyh form eritrocitov metodami atomno-silovoy mikroskopii [Peculiarities of the study of morphology of abnormal forms of erythrocytes by methods of atomic force microscopy]. *Nauka. Innovacii. Tekhnologii*, 2015, no. 3, pp. 53–57. (in Russian).
 34. Pivovarov YU.I., Dmitrieva L.A., Sergeeva A.S., Saj O.V., YAn'kova T.S. Ocenka deformiruемости eritrocitov u pacientov s gipertonicheskoy bolezn'yu [Evaluation of erythrocyte deformability in hypertensive patients]. *Arterial'naya gipertenziya*, 2021, vol. 27, no. 1, pp. 94–99. (in Russian).
 35. Mel'chenko E.A. Primenenie atomno-silovoy mikroskopii pri issledovanii biofizicheskix svojstv membran eritrocitov [Application of atomic force microscopy in the study of biophysical properties of erythrocyte membranes]. *Nauka. Innovacii. Tekhnologii*, 2015, no. 3, pp. 131–136. (in Russian).
 36. Guedes F., Carvalho F.A., Malho I., Lousada N., Sargento L., Santos N.C. Atomic force microscopy as a tool to evaluate the risk of cardiovascular diseases in patients. *Nat Nanotechnol*, 2016, vol. 11, no. 8, pp. 687–692.

37. Petrova E.B., Shishko O.N., Rusak T.V., Kozich V.D., Kolyadko M.G., Statkevich T.V., Mahnach S.A., Mit'kovskaya N.P. Dislipidemiya i koronarnyj ateroskleroz u bessimptomnyh pacientov s subklinicheskim gipotireozom [Dyslipidemia and coronary atherosclerosis in asymptomatic patients with subclinical hypothyroidism]. *Kardiologiya v Belarusi*, 2023, vol. 15, no. 4, pp. 472–484. (in Russian).
38. Karpov YU.A., Sorokin E.V. *Stabil'naya ishemicheskaya bolezn' serdca: strategiya i taktika lecheniya* [Stable ischemic heart disease: treatment strategy and tactics], 3-e izd., pererab. i dop. M.: OOO «Izdatel'stvo «Medicinskoe informacionnoe agentstvo», 2012, 271 s. (in Russian).
39. Karpov YU.A., Kuharchuk V.V., Lyakishev A.A., Lupanov V.P., Panchenko E.P., Komarov A.L., Ezhov M.V., Shiryayev A.A., Samko A.N., Soboleva G.N., Sorokin E.V. Diagnostika i lechenie hronicheskoy ishemicheskoy bolezn'i serdca: klinicheskie rekomendacii [Diagnosis and treatment of chronic ischemic heart disease: clinical guidelines]. *Kardiologicheskij vestnik*, 2015, no. 3, pp. 3–33. (in Russian).
40. Tsapaeva N.L., Konstantinova E.E., Russkih I.I., Mironov E.V., Mel'nikova G.B., Chizhik S.A., Tarashkevich N.V., Chernoglaz P.F., Yurlevich D.I., Kuzhel' N.S., Tolstaya T.N. Biofizicheskie i biohimicheskie kriterii riska kardiovaskulyarnyh oslozhenij u pacientov s ostrym koronarnym sindromom [Biophysical and biochemical risk criteria for cardiovascular complications in patients with acute coronary syndrome]. *Kardiologiya v Belarusi*, 2016, vol. 8, no. 3, pp. 377–384. (in Russian).
41. Konstantinova E.E., Mel'nikova G.B., Tsapaeva N.L., Chizhik S.A., Tolstaya T.N., Mironova E.V. Vyazko-uprugie svoystva membran i parametry agregacii eritrocitov u pacientov s ishemicheskoy bolezn'yu serdca v razlichnye sroki posle ekstremnoj rentgenendovaskulyarnoj revaskulyarizacii miokarda [Viscoelastic membrane properties and erythrocyte aggregation parameters in patients with ischemic heart disease at different time periods after emergency endovascular myocardial revascularization]. *Tromboz, gemostaz i reologiya*, 2017, vol. 4 (72), pp. 53–56. (in Russian).
42. Tsapaeva N.L., Mironova E.V., Chizhik S.A., Mel'nikova G.B., Tolstaya T.N., Chernoglaz P.F., Yurlevich D.I. Vozmozhnosti atomnosilovoy mikroskopii v izuchenii strukturno-funktsional'nykh svoystv kletok krovi pri ostrym koronarnom sindrome [Possibilities of atomic force microscopy in studying the structural and functional properties of blood cells in acute coronary syndrome]. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnyy risk.*, 2019, vol. 1, pp. 568–575.
43. Laskina O.V., Zalesskaya G.A., Mashchar N.V. Ultraviolet blood photomodification in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome (Part 1). Photochemical reactions. Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnyye riski [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2022, vol. 6, no. 2, pp. 1637–1643. (in Russian).
44. Laskina O.V., Zalesskaya G.A., Mashchar N.V. Ul'traioletovaya fotomodifikaciya krovi u pacientov s ostrym koronarnym sindromom bez pod'emna segmenta ST. Ch. 2. Vliyanie na processy metabolizma [Ultraviolet blood photomodification in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome (Part 2). Impact on metabolic processes]. *Neotlozh. kardiologiya i kardiovaskulyar. riski*, 2023, vol. 7, no. 1, pp. 1816–1820. (in Russian).
45. Kaplan Z.S., Jackson S.P. The role of platelets in atherothrombosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2011, no. 1, pp. 51–61.
46. Panteleev M.A., Ananyeva N.M., Greco N.J., Ataullakhanov F.I., Saenko E.L. Two subpopulations of thrombin-activated platelets differ in their binding of the components of the intrinsic factor X-activating complex. *J Thromb Haemost.*, 2005, vol. 3, no. 11, pp. 2545–2553.
47. Westein E., de Witt S., Lamers M., Cosemans J.M., Heemskerck J.W. Monitoring in vitro thrombus formation with novel microfluidic devices. *Platelets*, 2012, vol. 23, no. 7, pp. 501–509.
48. Nieswandt B., Brakebusch C., Bergmeier W., Schulte V., Bouvard D., Mokhtari-Nejad R., Lindhout T., Heemskerck J.W., Zirngibl H., Fässler R. Glycoprotein VI but not $\alpha 2\beta 1$ integrin is essential for platelet interaction with collagen. *The EMBO Journal*, 2012, vol. 20, no. 9, pp. 2120–2130.
49. Kuharenko L.V., Chizhik S.A., Drozd E.S., Gelis L.G., Lazareva I.B., Medvedeva E.A. Ispol'zovanie atomno-silovoj mikroskopii dlya diagnostiki morfo-funktsional'nogo sostoyaniya trombocitov pacientov s ishemicheskoy bolezn'yu serdca [Use of atomic force microscopy for diagnostics of morpho-functional state of platelets of patients with ischemic heart disease]. *Doklady BGUIR*, 2016, no. 7 (101), pp. 66–70. (in Russian).
50. Timashev P.S., Kotova S.L., Belkova G.V., Gubar'kova E.V., Timofeeva L.B., Gladkova N.D., Solovieva A.B. Atomic force microscopy study of atherosclerosis progression in arterial walls. *Microscopy and Microanalysis*, 2016, vol. 22, no. 2, pp. 311–325.

Послупила: 21.09.2023