

ВОЗМОЖНОСТИ АТОМНОСИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В ИЗУЧЕНИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ

Н.Л. Цапаева¹, Е.В.Миронова¹, С.А. Чижик², Г.Б. Мельникова², Т.Н. Толстая², П.Ф. Черноглаз³, Д.И. Юрлевич⁴

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск¹

Институт тепло- и массообмена им. А.В.Лыкова НАН Беларуси, Минск²

Учреждение здравоохранения «1-я городская клиническая больница», Минск³

ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», Минск⁴

УДК 616.132.2-008.64:616.15

Ключевые слова: острый коронарный синдром, атомно-силовая микроскопия, структурно-функциональные свойства эритроцитов и тромбоцитов, двойная антитромбоцитарная терапия.

для цитирования. Н.Л. Цапаева, Е.В.Миронова, С.А. Чижик, Г.Б. Мельникова, Т.Н. Толстая, П.Ф. Черноглаз, Д.И. Юрлевич. Возможности атомно-силовой микроскопии в изучении структурно-функциональных свойств клеток крови при остром коронарном синдроме. *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*, 2019, Т. 3, № 1, С. 568–575.

Цель. Изучить структурно-функциональные особенности тромбоцитов и эритроцитов в патогенезе острого коронарного повреждения миокарда и их изменения у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) в течение трёх лет наблюдения.

Методы. Обследовано 44 пациента с острым коронарным синдромом в условиях динамического наблюдения: этап «скорой помощи»; стационарный этап; через 6, 24 и 36 месяцев после реваскуляризации миокарда.

Результаты. С использованием метода атомно-силовой микроскопии разработаны критерии осложненного течения острого коронарного синдрома и комплекс показателей, ассоциирующийся с прогнозом летальных исходов

на госпитальном этапе. Изучены изменения структурно-функциональных свойств тромбоцитов и эритроцитов на фоне приёма двойной антитромбоцитарной терапии (в течение двух лет) и в её отсутствие через три года наблюдения.

Заключение. Использование метода атомно-силовой микроскопии позволяет оценить морфологические, механические и вязкостные свойства мембран клеток крови в определении прогноза ОКС. Установлено нарастающее повышение агрегационного потенциала тромбоцитов после отмены клопидогреля у большинства пациентов к концу 3-го года наблюдения.

POSSIBILITIES OF ATOMIC FORCE MICROSCOPY IN STUDYING THE STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF BLOOD CELLS IN ACUTE CORONARY SYNDROME

N.L. Tsapayeva¹, E.V. Mironova¹, A.S. Chizik², G.B. Melnikova², T.N. Tolstaya², P.F. Chernoglaz³, D.I. Yurlevich⁴

Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus¹

Heat and Mass Transfer Institute of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus²

1st city clinical hospital, Minsk, Belarus³

State Institution «Minsk scientific and practical center of surgery, transplantology and hematology», Minsk, Belarus⁴

Key words: acute coronary syndrome, atomic force microscopy, structural and mechanical properties of erythrocytes and platelets, dual antiplatelet therapy.

FOR REFERENCES. N.L.Tsapayeva, E.V. Mironova, A.S. Chizik, G.B. Melnikova, T.N. Tolstaya, P.F. Chernoglaz, D.I.Yurlevich. Possibilities of atomic force microscopy in studying the structural and functional properties of blood cells in acute coronary syndrome. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardioovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2019, vol. 3, no. 1, pp. 568–575.

Aim. To study structural and functional characteristics of platelets and erythrocytes in the pathogenesis of acute coronary injury of the myocardium in patients with acute coronary syndrome within three years.

Methods. 44 patients with acute coronary syndrome were examined through dynamic monitoring: at the stage of emergency aid, during in-patient treatment and at 6, 24 and 36 months after myocardial revascularization.

Results. The criteria of complicated acute coronary syndrome and the criteria associated with the prognosis of fatal outcomes have been developed

using the atomic force microscopy. The changes in structural and mechanical properties of platelets and erythrocytes were studied under the dual antiplatelet therapy within three years and in its absence after three years of follow-up.

Conclusions. The use of atomic force microscopy allows for evaluation of structural, mechanical and viscous properties of the blood cells in the prognosis of acute coronary syndrome outcomes. Increase in the potential aggregation of the platelets without clopidogrel was detected in most patients at the end of the three-year follow-up period.

Введение

Ведущим фактором, определяющим прогноз у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС), является быстрое и полноценное восстановление кровотока в коронарном русле с помощью тромболитической терапии (ТЛТ) или первичного чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ). Тем не менее проблема прогрессирования коронарной недостаточности как в ближайшем, так и в отдаленном периоде ОКС не решена [1, 2]. Агрегационная способность эритроцитов и тромбоцитов в определенной степени определяют морфофункциональное состояние микроциркуляторного русла и играют прогностическое значение в исходе реvascularизации миокарда при ОКС [3]. В наших предыдущих исследованиях было установлено, что «парадоксальное» повышение деформируемости эритроцитов наблюдалось у пациентов с нестабильной стенокардией (НС), клинический статус которых, соответствовал фазе острейшего нарушения коронарного кровообращения, а высокая степень ригидности и выраженный *slagge* феномен эритроцитов наблюдались у пациентов со сформировавшимся инфарктом миокарда (ИМ) [4]. В этой связи представлялось целесообразным определить структурно-функциональные изменения клеток крови (эритроцитов и тромбоцитов) у пациентов с ОКС, начиная с этапа скорой помощи, после проведенной экстренной реvascularизации миокарда и в отдаленном периоде заболевания. Задача оценки морфофункциональных свойств эритроцитов и тромбоцитов может быть решена с помощью метода атомно-силовой микроскопии (АСМ) [5]. Метод позволяет визуализировать объекты с большим пространственным разрешением (0,1 нм), проводить количественную оценку локальных механических свойств клеток и адгезивных сил, что открывает новые возможности для выявления изменений структурно-функционального состояния клеток крови при острых и хронических формах ишемической

болезни сердца (ИБС) [6, 7]. В статье представлены фрагменты результатов научно-исследовательских работ «Исследование структурно-функциональных особенностей клеток крови в патогенезе острого коронарного синдрома и их изменений до и после экстренной реvascularизации миокарда» и «Изучить механизмы формирования резистентности к антитромбоцитарной терапии у пациентов ишемической болезнью сердца после эндоваскулярной реvascularизации миокарда» ГПНИ «Медицина и фармация» в рамках подпрограммы «Фундаментальные и прикладные науки – медицине».

Цель исследования

Изучить структурно-функциональные особенности тромбоцитов и эритроцитов в патогенезе острого коронарного повреждения миокарда и их изменения у пациентов с острым коронарным синдромом в течение трёх лет наблюдения.

Материалы и методы

В клиническое исследование включено 44 пациента с ОКС. У 40 пациентов, выписанных из стационара (18-ти – подвергшихся ТЛТ, с использованием метализе, средний возраст $59,6 \pm 5,8$ года; у 22-ух – ЧКВ, $61,9 \pm 4,9$ года), обследование проведено в условиях динамического наблюдения в течение трёх лет: этап «скорой помощи», стационарный этап; через 6, 24 и 36 месяцев после реvascularизации миокарда. Забор крови у пациентов с ОКС осуществлялся до проведения тромболиза или экстренного ЧКВ, с доставкой образцов крови в течение 2-х часов после забора. Исследование геометрии, структуры поверхности и упругих свойств мембраны форменных элементов крови осуществляли при помощи комплекса АСМ (Беларусь). Оценка упругих свойств мембраны клеток – модуль упругости эритроцитов (МУЭ МПа), тромбоцитов (МУТ МПа) – осуществлялась методом статической силовой спектроскопии:

контактное деформирование исследуемого объекта острием зонда и измерение зависимости силы взаимодействия зонда с поверхностью образца от расстояния между ними. Изменение вязко-упругих характеристик мембраны клетки (силы адгезии, F_{NH}) фиксировали путем измерения модуля упругости по модели Герца на ACM NT-206 с использованием стандартных кремниевых зондов NSC 11, жесткость 3 Н/м («MikroMash»). Последующая обработка данных проводилась с помощью программ Surface Explorer, Microsoft Office Excel и Origin. Определение среднего размера и параметров шероховатости проводилось после обработки ACM-изображений в программе Surface Explorer. Степень агрегации эритроцитов (САЭ) определяли по скорости их оседания в стандартизованных стеклянных капиллярах диаметром 3 и длиной 200 мм («Dräger & Heerhorst GmbH & Co. ЛП», Германия) [8]. Лечение пациентов проводилось со строгим соблюдением протоколов ведения пациентов с ОКС на догоспитальном, стационарном и амбулаторном этапах. Мониторинг эффективности двойной анитромбоцитарной терапии (ДАТ) – (аспирин 75 мг + клопидогрель 75 мг) проводился на полуавтоматическом импедансном анализаторе функции тромбоцитов в цельной крови «Multiplate» с использованием следующих критериев: высокая вероятность резистентности к аспирину определялась при $ASPI\text{-}тест > 50\text{ U}$; $ADP\text{-}тест > 60\text{ U}$; $TRAP\text{-}тест > 110\text{ U}$ – риск тромбоза стента; $TRAP\text{-}тест > 140\text{ U}$ – очень высокий риск тромбоза стента, что определяло длительность ДАТ [9].

Результаты и обсуждение

При изучении упругих свойств тромбоцитов установлено, что значения модуля упругости тромбоцитов (МУТ) логично

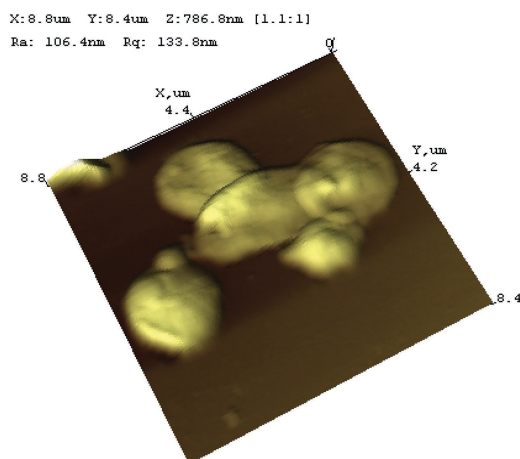


Рисунок 1

отражали повышение степени активации кровяных пластинок у пациентов с ОКС и находились в пределах от $135,5 \pm 8,8$ МПа, достоверно отличаясь от значений МУТ практически здоровых лиц: $103,8 \pm 5,9$ МПа ($p < 0,001$).

Нами документировано изменение формы активированных тромбоцитов: дисковидной на сферическую с образованием филоподий, обуславливающих адгезию на сосудистой стенке. При этом вещества, вышедшие из гранул активированных тромбоцитов, действуют на белки крови, стимулируя дальнейшее тромбообразование (рис. 1) [10].

Перед переводом на реабилитационный этап (10 суток) после проведения ЧКВ значения МУТ составили $120 \pm 4,9$ МПа; в группе пациентов после ТЛТ этот показатель составил $116,1 \pm 6,3$ МПа, что свидетельствовало об уменьшения степени активации тромбоцитов в подостром периоде ИМ в результате проведенной реваскуляризации миокарда и адекватной антикоагулянтной и антиагрегантной терапии.

В результате исследования морфологии, ультраструктуры и упругих свойств эритроцитов были получены следующие данные. Установлено резкое снижение значений модуля упругости эритроцитов – МУЭ $67,5 \pm 9,05$ МПа в остройшей фазе ишемического повреждения миокарда у пациентов с ОКС. В остройшей период повреждения миокарда параметры силы адгезии составили $29,5 \pm 5,19$ нН, имея тенденцию к увеличению этого показателя в целом по группам, по сравнению с пациентами со стабильной стенокардией ($23,5 \pm 3,15$ нН) (рис. 2). [10]

Поддержание формы и деформируемость эритроцитов зависят от структурной и функциональной интеграции мембранных белков двух типов: первые – встроенные в липидный бислой; вторые – образующие цитоскелет, главный компонент которого белок спектрин, образует трехмерную структуру, что определяет механические.

Распределение значений МУЭ в динамике наблюдения на стационарном этапе у пациентов с ОКС, подвергшихся ТЛТ или ЧКВ представлена на рисунках 3,4,5.

Значения силы адгезии у пациентов, которым было проведено ЧКВ на 10-е сутки составили: $25,3 \pm 2,15$ нН, у пациентов после ТЛТ $24,4 \pm 3,18$ нН, что свидетельствовало об улучшении адгезивных свойств эритроцитов не зависимо от способа реваскуляризации в целом по группам.

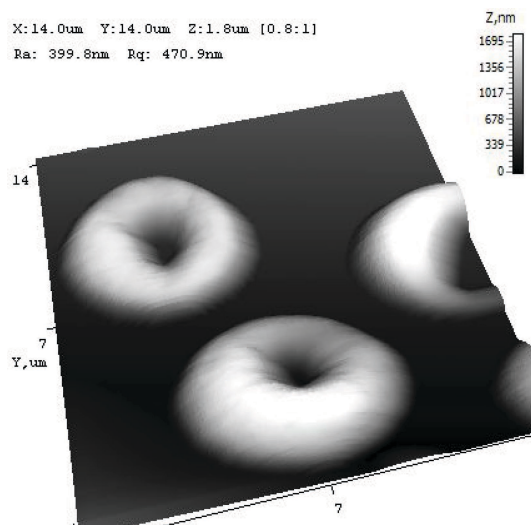


Рисунок 2. Свойства эритроцитов, в том числе их деформируемость в кровеносных сосудах и капиллярах

В течение госпитального периода зафиксированы следующие осложнения: летальный исход (1–3 сутки) – 4 пациента (9%), острая левожелудочковая недостаточность – 2 пациента (4,5%), ранняя перинфарктная стенокардия – 2 пациента (4,5%), что составило 18 %. Причины летальности: категорический отказ от проведения коронароангиографии (КАГ), возраст, обширное поражение миокарда, тяжёлая коморбидная патология: хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) (ХОБЛ), инсулинзависимый сахарный диабет (СД) 2 типа. Пациентам с перинфарктной стенокардией, отказавшимся от проведения КАГ при поступлении, была проведена успешная рентгенэндоваскулярная реваскуляризация миокарда на 4 и 8 сутки. Анализируя, полученные с помощью АСМ, значения морфофункциональных свойств клеток крови в острой фазе острого повреждения миокарда, установлено, что тромбоциты отличаются сферической формой, наличием большого количества псевдоподий и логичным повышением модуля упругости, что указывает на повышение степени активации кровяных пластинок. Со стороны эритроцитов зарегистрирована тенденция к повышению адгезивных свойств красных клеток, что в сочетании с уменьшением упругих свойств эритроцитов, по-видимому, определяют «парадоксальное» кратковременное повышение деформируемости эритроцитов в острой фазе повреждения миокарда, установленное нами в предыдущих работах [4].

В таблице 1 представлены значения морфофункциональных свойств эритроцитов

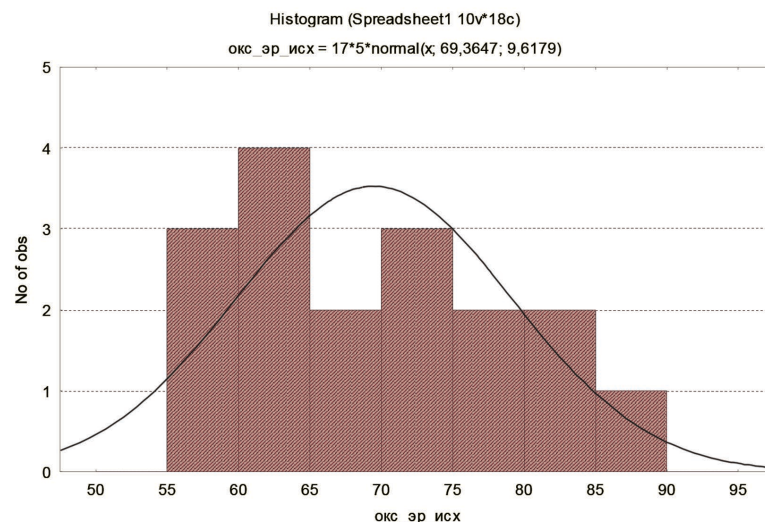


Рисунок 3. Распределение значений модуля упругости эритроцитов (МУЭ) в остром периоде острого коронарного синдрома

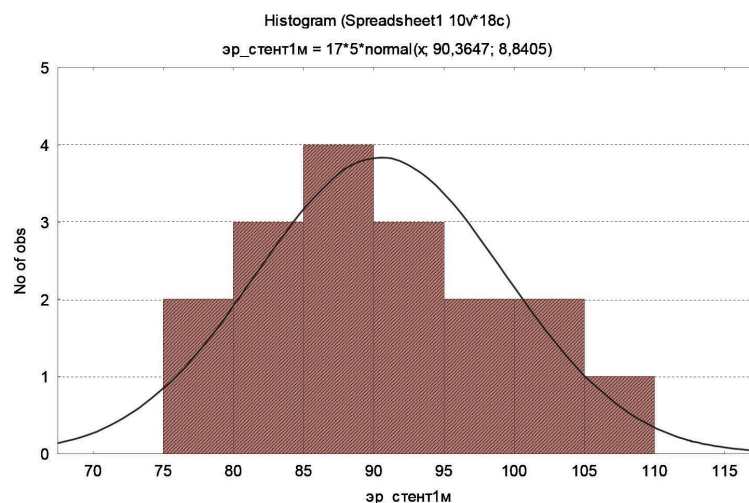
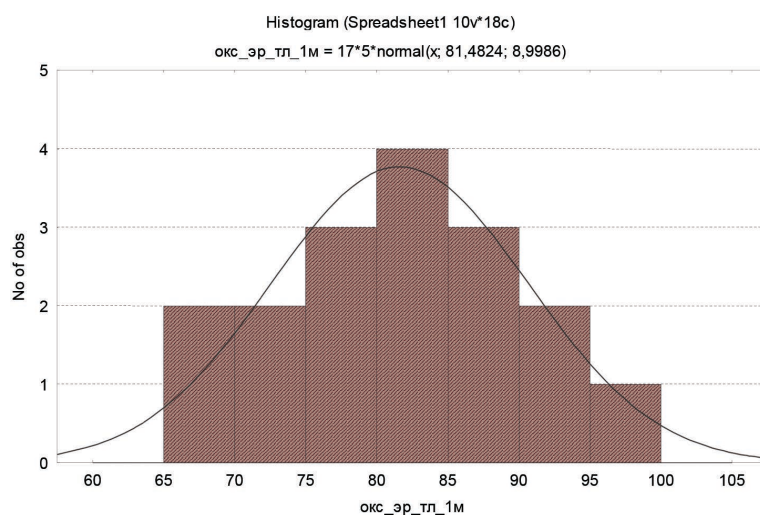


Рисунок 4. Распределение значений модуля упругости эритроцитов (МУЭ) через 10 дней после первичного чрескожного коронарного вмешательства



Распределение значений модуля упругости эритроцитов (МУЭ) через 10 дней после тромболитической терапии

Таблица 1.
Значения модуля упругости (МУЭ), адгезивных свойств (F) и степени агрегации эритроцитов (САЭ) у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) в зависимости от клинического течения на госпитальном этапе

Показатели	Течение ОКС на госпитальном этапе		
	Летальные случаи n = 4	Осложненное течение n = 4	Неосложненное течение n=36
МУЭ (Мпа)	65,6(57,5; 69,8)***	70,85 (69,4;78,8)**	85,8 (75,3;88,2)
F (нН)	30,5 (27,4; 31,3)*	27,2,(24,4; 27,2)	24,4 (23,9; 26,8)
САЭ мм/2 ч	99,4 (95,2; 101,8)***	90,2 (88,6; 98,2)**	80,5 (68,6; 88,2)

Примечание: различия достоверны по отношению к значениям исследуемых показателей у пациентов с неосложненным течением ОКС при уровне значимости ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

у пациентов с ОКС в зависимости от клинического течения госпитального этапа.

Для определения прогностической значимости исследуемых с помощью ACM параметров клеток крови проведен многофакторный анализ с использованием

программы «Statistica7.0» в соответствии с международными рекомендациями [11], который осуществлялся при помощи оценки статистической значимости различия выборок по среднему значению и по изменчивости исследуемой величины. На нижеприведенных рисунках 6, 7, 8 представлены результаты многофакторного анализа полученных данных у пациентов с ОКС до реваскуляризации миокарда. На графике подгруппа пациентов с благоприятными исходами ОКС обозначен буквой р, с неблагоприятными исходами – буквой n. Как следует из алгоритма обработки данных, при уровне значимости различий показателя в подгруппах выше 0,05 он является прогностически значимым.

Значение расчетных параметров для МУЭ – 0,08, для САЭ – 0,15, для МУТ – 0,04, следовательно из исследуемых показателей, в комплекс прогностически значимых у пациентов в острой фазе ОКС могут быть включены модуль упругости и степень агрегации эритроцитов.

Исходя из статистического анализа полученных результатов, дополнительно к существующим могут быть предложены критерии, полученные с использованием ACM: «МУЭ < 70 Мпа, повышение адгезивных свойств эритроцитов + САЭ > 90 мм/2 ч» – критерии риска неблагоприятного течения ОКС на госпитальном этапе. «МУЭ < 65 Мпа при значительном повышении адгезивных свойств эритроцитов + САЭ > 100 мм/2ч» – комплекс показателей, ассоциирующийся с прогнозом летальных исходов на госпитальном этапе.

Контрольная оценка исследуемых показателей крови проводилась через 6 месяцев от возникновения острой коронарной катастрофы, которая принята за «исходное состояние» в оценке изменений структурно-функциональных свойств тромбоцитов и эритроцитов в отдаленном периоде ОКС. Распределение значений механических свойств мембран клеток через 6, 24 и 36 месяцев после реваскуляризации миокарда представлены на рис. 9, 10, 11.

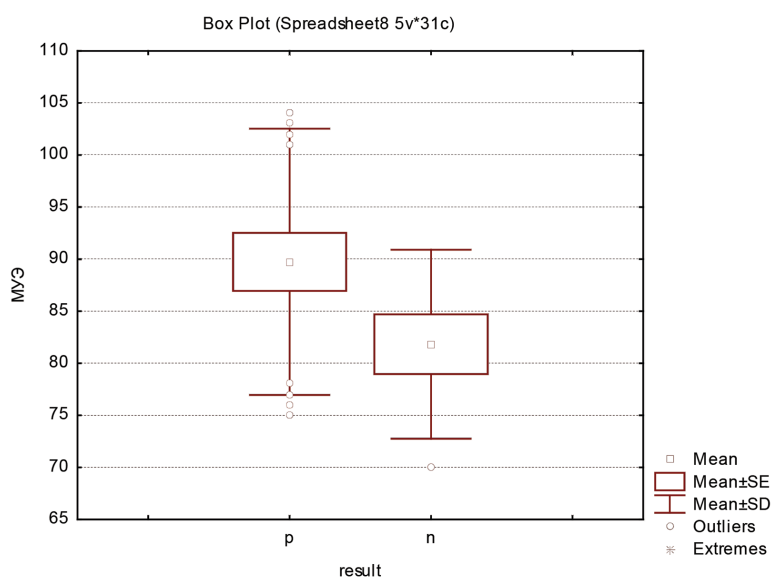


Рисунок 6. Интервальный график модуля упругости эритроцитов (МУЭ)

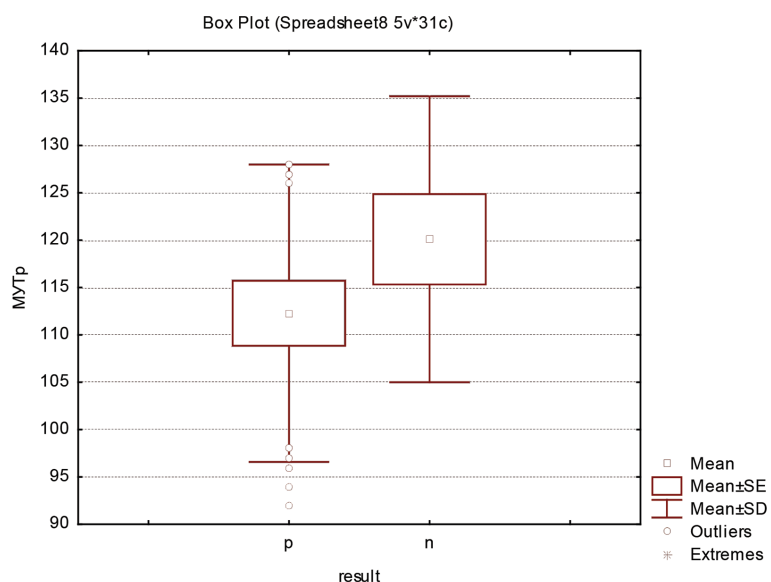


Рисунок 7. Интервальный график модуля упругости тромбоцитов (МУТ)

Через 6 месяцев после реваскуляризации миокарда у пациентов с ОКС значения показателей механических свойств клеток указывает на стабилизацию мембран эритроцитов и тромбоцитов, соответствуя их значениям у пациентов со стабильной стенокардией [5, 10]. В течение 24 месяцев наблюдения отмечалось уменьшение модуля упругости мембран клеток от 127,5 до 110,6 и от 143,8 до 112,2 МПа для эритроцитов и тромбоцитов, соответственно. Большинство тромбоцитов имели дисковидную форму без наличия филоподий. Мембрана клеток эритроцитов выглядела менее жесткой по сравнению с исходным статусом. Значения САЭ соответствовали средним значениям степени агрегации эритроцитов у пациентов со стабильной стенокардией. Это свидетельствовало о стабилизации мембран клеток обоих видов, нормализации деформируемости эритроцитов и достоверному снижению агрегационного потенциала тромбоцитов. Через 36 месяцев наблюдения отмечено повышение значений исследуемых показателей, что указывало на повышение агрегационного потенциала тромбоцитов и, с нашей точки зрения было связано с отменой клопидогреля. Длительная адекватная двойная терапия – ДАТ является «патогенетической гарантией» результативности экстренной реваскуляризации миокарда [12]. Из 40 пациентов с ОКС на амбулаторном этапе 28 принимали плавикс, 12 – клопидогрель в виде

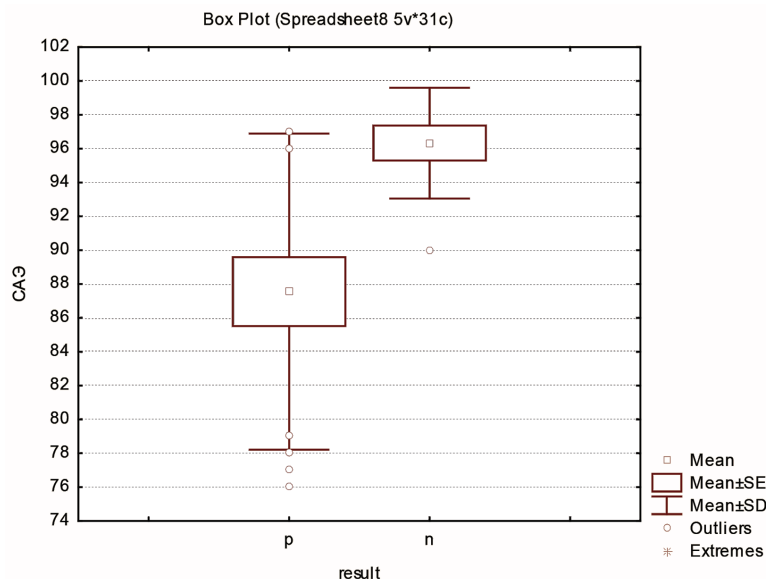


Рисунок 8. Интервальный график степени агрегации эритроцитов (САЭ)

Сроки наблюдения / показатели	6 мес.	24 мес.
ASPI-тест < 50 U	23(14; 62)	19(12; 48)
ADP-тест < 60 U	38(23; 89)	42 (36; 78)
TRAP-тест < 110 U	67(88; 142)	62(46; 115)

Таблица 2. Мониторинг двойной антитромбоцитарной терапии у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) в течение 24 месяцев (n = 40)

дженерика и АСК (аспикард) в дозе 75 мг. В таблице 2 представлены результаты динамического контроля за эффективностью ДАТ.

Практически у всех пациентов достигнут адекватный антитромбоцитарный эффект,

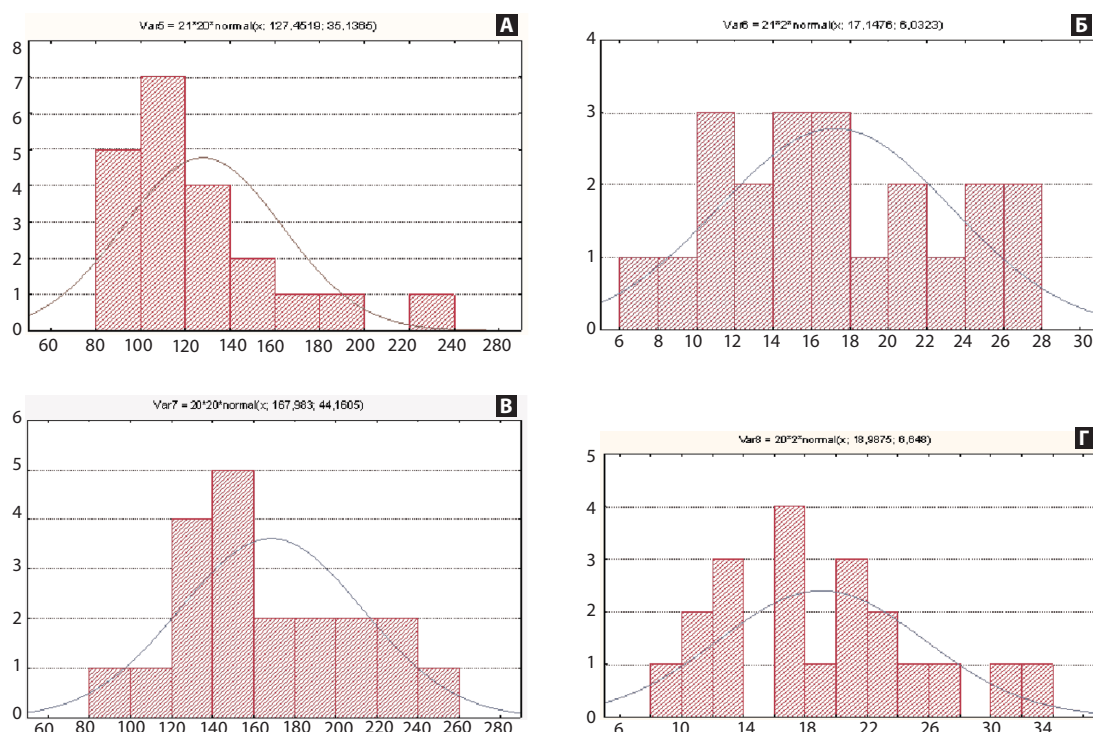


Рисунок 9. Распределение значений механических свойств мембран клеток эритроцитов (а, б) и тромбоцитов (в, г) у пациентов в исходном состоянии – через 6 месяцев после реваскуляризации миокарда – (а, в – модуль упругости, МПа; б, г – сила адгезии, нН).

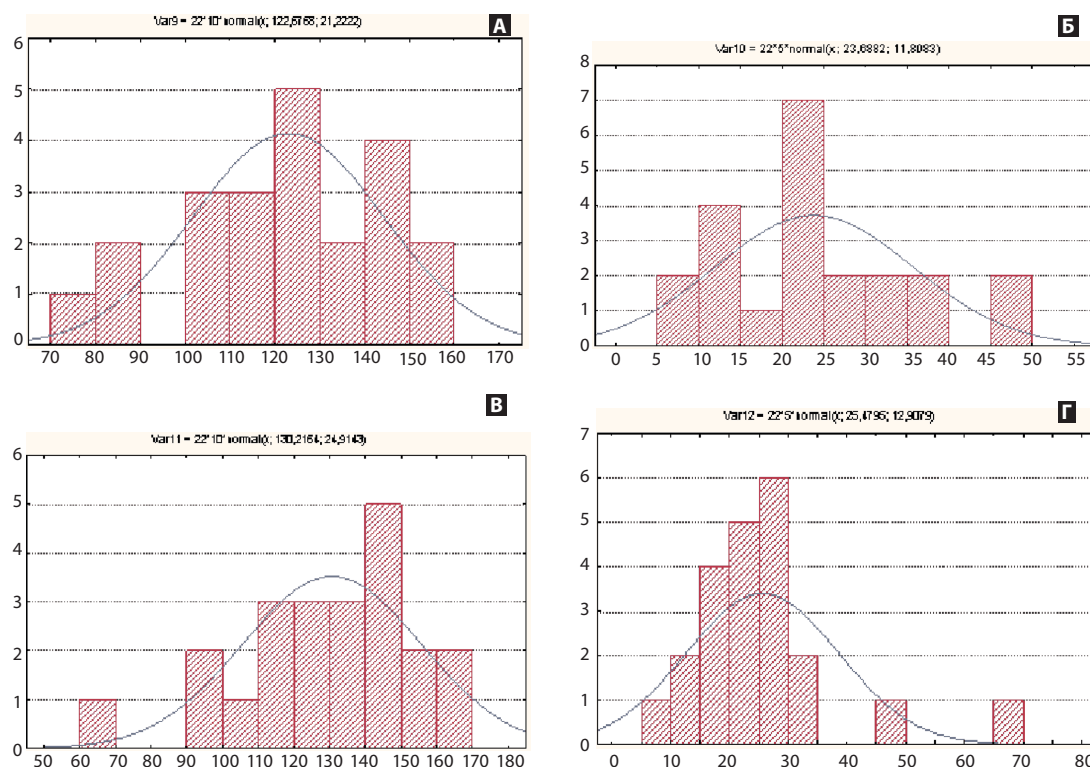


Рисунок 10.
Распределение значений механических свойств мембран клеток эритроцитов (а, б) и тромбоцитов (в, г) у пациентов через 24 месяца наблюдения (а, в – модуль упругости, МПа; б, г – сила адгезии, нН).

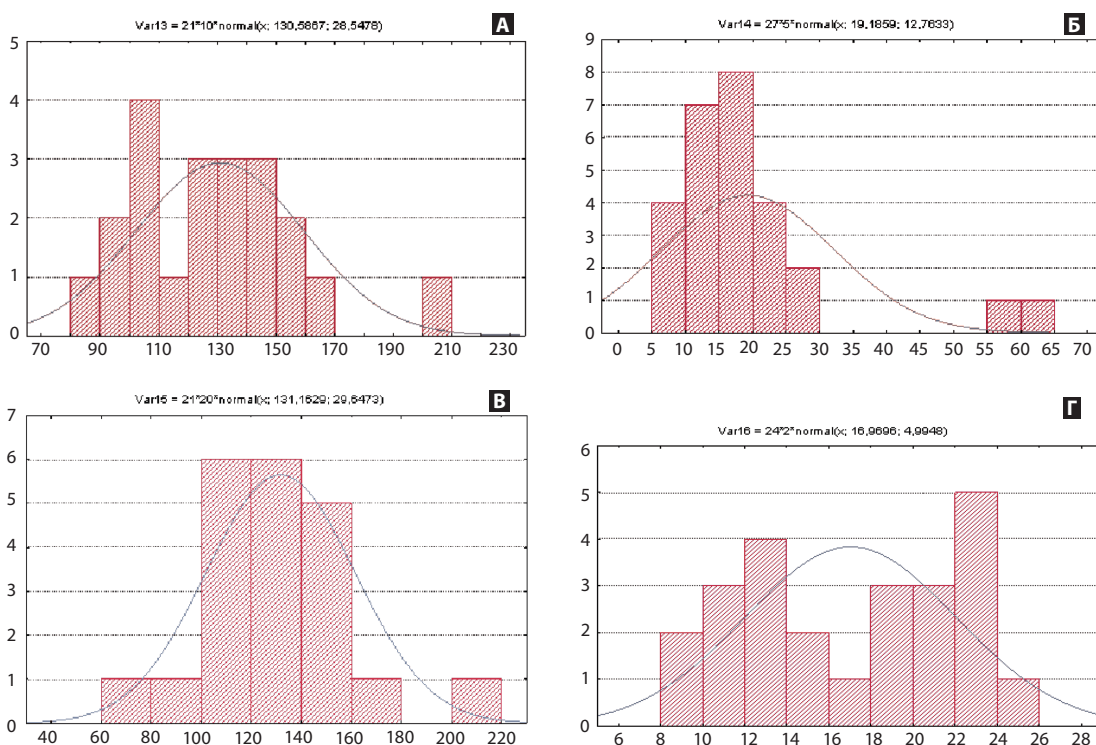


Рисунок 11.
Распределение значений механических свойств мембран клеток эритроцитов (а, б) и тромбоцитов (в, г) у пациентов через 36 месяцев наблюдения (а, в – модуль упругости, МПа; б, г – сила адгезии, нН).

определивший хороший результат реваскуляризации миокарда у 38 пациентов (95%) в течение трех лет наблюдения. Истинная резистентность к ДАТ (ни к аспирину, ни к клопидогрелю) в данной выборке не наблюдалась. У 1-го пациента на 6-м месяце отмечено выраженное снижение показателя

АСПИ-теста до 2 U, что сопровождалось кровоточивостью десен. После отмены АСК на 2 недели симптомы купированы (АСПИ-тест – 32 U), рекомендовано продолжение приёма АСК. У 12 пациентов после перехода с плавикса на дженерик TRAP-тест повысился с 68,4±8,9 U до 122,9±7,4 U (рекомендовано

перейти на плавикс), У 22 пациентов после отмены клопидогреля (ч/з год приема) TRAP-тест через 3 месяца повысился до значений $> 140U$, что явилось основанием для рекомендации продолжать прием ДАТ в течение 2-х лет. Летальных случаев в отдаленном периоде ОКС не зарегистрировано. У двух пациентов (5%) в конце 3-го года наблюдения развился повторный ИМ, связанный с тромбозом стента.

Заключение

Использование метода АСМ для изучения микрорельефа и структуры поверхности клетки и развитие метода с точки зрения математических подходов к обработке результатов дает возможность оценки морфологических, механических и вязкостных свойств клеточных мембран в определении прогноза ОКС. Определены критерии риска неблагоприятного течения ОКС на госпитальном этапе: «МУЭ $< 70 Mna$, повышение адгезивных свойств эритроцитов + САЭ $> 90 mm/2 ч$ » и комплекс показателей, ассоциирующийся с прогнозом летальных исходов на госпитальном этапе: «МУЭ $< 65 Mna$

при значительном повышении адгезивных свойств эритроцитов + САЭ $> 100 mm/2ч$ ». Динамическая оценка показателей механических и вязкостных свойств клеток с помощью АСМ позволяет контролировать эффективность двойной антитромбоцитарной терапии. Установлено нарастающее повышение агрегационного потенциала тромбоцитов после отмены клопидогреля (через два года постоянного приема) у большинства пациентов к концу 3-го года наблюдения. Представляется перспективным дальнейшее изучение адгезивных свойств эритроцитов, что позволит уточнить патофизиологические механизмы формирования миокардиальной микроциркуляторной дисфункции в острейшей фазе острого повреждения миокарда, и использование результатов оценки механических свойств тромбоцитов в отдаленном периоде рентгенэндоваскулярной реваскуляризации миокарда для пересмотра или уточнения длительности двойной антитромбоцитарной терапии.

Конфликт интересов: отсутствует.

Источник финансирования отсутствует.

References

1. Wijns W., Kolh P., Danchin N., Di Mario C., Falk V., Folliquet T., Garg S., Huber K., James S., Knuuti J., Lopez-Sendon J., Marco J., Menicanti L., Ostojic M., Piepoli M.F., Piret C., Pomar J.L., Reifart N., Ribichini F.L., Schali J.M.J., Sergeant P., Serruys P.W., Silber S., Sousa U.M., Taggart D. Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J.* 2014, vol. 31, no. 20, pp. 2501–2555. doi: 10.1093/eurheartj/ehq277.
2. Widimsky P., Fajadet J., Danchin N., Wijns W. «Stent 4 Life» targeting PCI at all who will benefit the most. A joint project between EAPCI, Euro-PCR, EUCOMED and the ESC Working Group on Acute Cardiac Care. *EuroIntervention*, 2009, vol. 4, no. 5, pp. 555–557.
3. Konstantinova E., Tsapaeva N., Mironova E. Changes of the microcirculation state and the hemorheology parameters in acute coronary syndrome. *13th Conference of the European Society for Clinical Hemorheology*, Siena, Italy, June 26–29, 2005 : abstract book. Siena, 2005, pp. 39–41.
4. Tsapaeva N. Microcirculatory and haemorrhological disorders in patients with IHD with different anatomic and functional status of collateral blood flow. *Abstracts of XVIII ESC and FSC*, Paris, Junier 16–19, 2008. Paris, 2008, pp. 245–246.
5. Kuznetsova T., Starodubtseva M., Yegorenkov N., Chizhik S., Zhdanov R. Atomic force microscopy probing of cell elasticity. *Micron*, 2007, vol. 38, no. 8, pp. 824–833.
6. Sirghi L., Ponti J., Broggi F., Rossi F. Probing elasticity and adhesion of live cells by atomic force microscopy indentation. *Eur Biophys J.* 2008, vol. 37, no. 6, pp. 935–945.
7. Jin H., Xing X., Zhao H., Chen Y., Huang X., Ma S., Ye H., Cai J. Detection of erythrocytes influenced by aging and type 2 diabetes using atomic force microscope. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010, vol. 391, no. 4, pp. 1698–1702.
8. ICSH recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation rate. International Council for Standardization in Haematology (Expert Panel on Blood Rheology). *J Clin Pathol*, 1993, vol. 46, no. 3, pp. 198–203.
9. Zapaeva N.L., Russkikh I.I., Chernoglaz P.F., Yurlevich D.I., Mironova E.V., Zhuk O.I., Kolb M.V. Monitoring dvojnoj antitrombozitarnej terapii posle ekstrennoj revascularizacii miokarda u pazientov s ostrim koronarnim sindromom [Monitoring of dual antiplatelet therapy after emergency myocardial revascularization in patients with acute coronary syndrome]. *I Mesdzunarodnij kongress kardiologov i terapevtov* : sb. nauch. trudov. Minsk, 2016, pp. 313–318. (in Russian).
10. Konstantinova E., Tsapaeva N., Mironova E. Structural and mechanical properties of erythrocytes and platelets in patients with acute coronary syndrome. *6th Eurosummer school on Biorheology and Symposium on Micro and Mechanobiology of cells, tissues and systems* : book abstracts. Varna, 2018, pp. 53–54.
11. Arking D.E., Juntila M.J., Goyette P., Huertas-Vazquez A., Eijgelsheim M., Blom M.T., Newton-Cheh C., Reinier K., Teodorescu C., Uy-Evanado A., Carter-Monroe N., Kaikkonen K.S., Kortelainen M.L., Boucher G., Lagacé C., Moes A., Zhao X., Kolodgie F., Rivadeneira F. et al. Identification of a Sudden Cardiac Death Susceptibility Locus at 2q24.2 through Genome-Wide Association in European Ancestry Individuals. *PLoS Genet.* 2011. vol. 7, no. 6. e1002158. doi: 10.1371/journal.pgen.1002158.
12. Kulickowski W., Witkowski A., Polonski L., Watala C., Filipiak K., Budaj A., Golanski J., Sitkiewicz D., Pregowski J., Gorski J., Zembala M., Opolski G., Huber K., Arnesen H., Kristensen S.D., De Caterina R. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2009, vol. 30, no. 4, pp. 426–435.

Поступила 01.04.2019