



Получено: 3.07.2025 г. | Принято: 10.07.2025 г. | <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2025.18.5.266.274>

Научная статья

МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОК КРОВИ ПО ДАННЫМ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

А.И.Ахметова^{1, 2}, к.ф.-м.н., ст. науч. сотр., вед. спец., ORCID: 0000-0002-5115-8030

И.В.Яминский^{1, 2}, д.ф.-м.н., проф., ген. дир., ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Аннотация. Зондовая микроскопия позволяет исследовать морфологию, наноструктуру мембраны, механические свойства и биохимические взаимодействия клеток крови в течение времени в жидкости и на воздухе. Механические свойства, жесткость и эластичность мембраны можно количественно оценить с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ). АСМ можно применять в различных областях, начиная от оценки качества хранящейся крови в банках переливания до выяснения молекулярных механизмов окислительного повреждения и изменений, связанных с различными заболеваниями. Использование АСМ в изучении эритроцитов помогает в понимании причин нейродегенеративных заболеваний, диабета и выкидышей.

Ключевые слова: эритроциты, эхиноциты, клетки крови, дискоциты, лейкоциты, атомно-силовая микроскопия, механические свойства

Для цитирования: А.И. Ахметова, И.В. Яминский. Морфология клеток крови по данным атомно-силовой микроскопии. НАНОИНДУСТРИЯ. 2025. Т. 18. № 5. С. 266–274. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2025.18.5.266.274>.

Received: 3.07.2025 | Accepted: 10.07.2025 | <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2025.18.5.266.274>

Original paper

MORPHOLOGY OF BLOOD CELLS BASED ON ATOMIC FORCE MICROSCOPY DATA

A.I.Akhmetova^{1, 2}, Cand. of Sci. (Physics and Mathematics), Senior Researcher, Leading Specialist, ORCID: 0000-0002-5115-8030

I.V.Yaminsky^{1, 2}, Doct. of Sci. (Physics and Mathematics), Prof., Director General, ORCID: 0000-0001-8731-3947 / yaminsky@nanoscopy.ru

Abstract. Probe microscopy allows us to study the morphology, nanostructure of the membrane, mechanical properties and biochemical interactions of blood cells over time in liquid and in air. The mechanical properties, rigidity and elasticity of the membrane can be quantified using atomic force microscopy (AFM). AFM can be used in a variety of areas: from assessing the quality of stored blood in transfusion banks to elucidating the molecular mechanisms of oxidative damage and disease-related changes. The use of AFM in the study of red blood cells helps in understanding the causes of neurodegenerative diseases, diabetes, and miscarriages.

Keywords: erythrocytes, echinocytes, blood cells, discocytes, leukocytes, atomic force microscopy, mechanical properties

For citation: A.I. Akhmetova, I.V. Yaminsky. Morphology of blood cells based on atomic force microscopy data. NANOINDUSTRY. 2025. Vol. 18. No. 5. PP. 266-274. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2025.18.5.266.274>.

¹ МГУ имени М.В.Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия / Lomonosov Moscow State University, Physical Department, Moscow, Russia

² ООО НПП "Центр перспективных технологий", Москва, Россия / Advanced Technologies Center, Moscow, Russia

ВВЕДЕНИЕ

Эритроцит — клетка, состоящая из цитоплазмы и клеточной мембраны, которую можно разделить на две части: липидный бислой и цитоскелет. Цитоскелет взаимодействует с интегральными белками и липидами для сохранения целостности мембраны. Он играет важную роль в поддержании формы, обеспечении гибкости клетки и организации липидов в эритроците. Дефицит любого из белков может привести к изменению структуры цитоскелета эритроцита, что снижает общую степень эластичности мембраны. Это, в свою очередь, может привести к неспособности эритроцита изменять форму при прохождении через капилляры, вызывая микрососудистые осложнения и дисфункции в транспорте кислорода.

Изменения морфологии эритроцитов связывают со старением эритроцитов и патологическими состояниями. АСМ позволяет получать изображения поверхностей эритроцитов с высоким разрешением без необходимости сложной пробоподготовки образцов, без фиксации, в условиях, близких к естественным, например, в буферных растворах (рис.1). Это позволяет визуализировать мельчайшие структуры поверхности, включая расположение частиц нанометрового масштаба на мембране эритроцитов, с латеральным разрешением до 0,5–1 нм и вертикальным разрешением 0,1–0,2 нм (рис.2) [1].

Исследования показали, что при длительном хранении (до 35 дней при +4 °С) диаметр клеток крови снижается, а модуль Юнга мембран эритроцитов значительно увеличивается, что коррелирует с морфологическими изменениями: превращением дискоцитов в эхиноциты (рис.3) и сфероэхиноциты, которые менее пригодны для целей переливания крови [2]. Средние значения и ширина распределения модуля Юнга значительно увеличивались в образцах, взятых у пациентов с сахарным диабетом и курильщиков по сравнению с образцами, взятыми у здоровых доноров; в то же время средние значения модуля Юнга увеличиваются в зависимости от возраста пациента [3].

В работе [4] нормальное старение эритроцитов визуализировалось как трансформации формы клеток (от нормального двояковогнутого диска через различные морфологические классы до полной потери нормальной формы, то есть плотных сфероцитов). Все эти изменения сопровождались постепенным уменьшением размера и шероховатости мембраны клеток. Уменьшение диаметра было связано с изменением формы. С помощью АСМ было установлено, что диаметр

INTRODUCTION

The erythrocyte is a cell consisting of cytoplasm and a cell membrane, which can be divided into two parts: a lipid bilayer and a cytoskeleton. The cytoskeleton interacts with integral proteins and lipids to maintain membrane

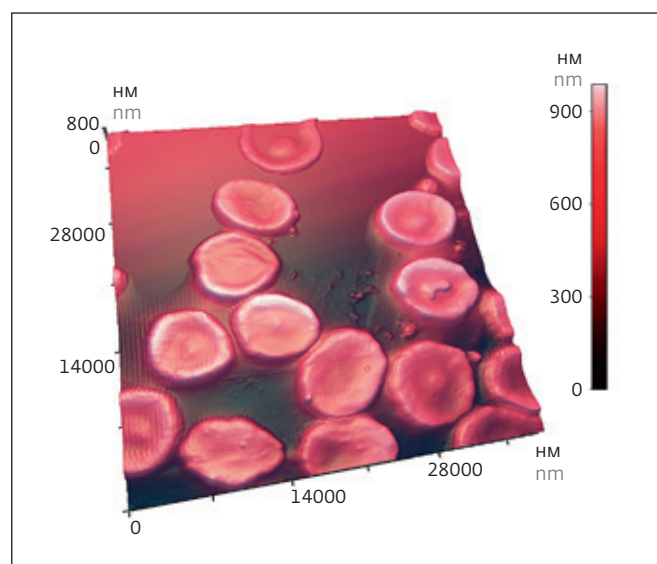


Рис.1. Эритроциты в АСМ на воздухе, преимущественно в форме дискоцитов, но заметно появление неровностей и шипов

Fig.1. Erythrocytes in AFM in air, predominantly in the form of discocytes, but with noticeable appearance of irregularities and spikes

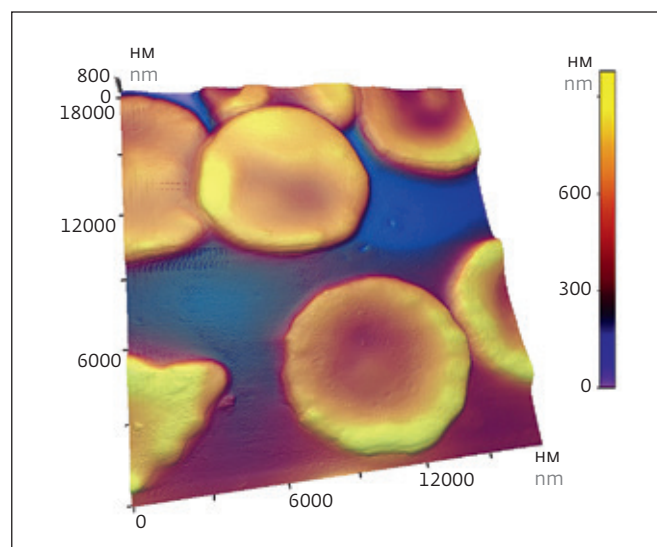


Рис.2. Эритроциты в форме двояковогнутого диска. Слева различим частично овалцит

Fig.2. Erythrocytes are in the shape of a biconcave disk. On the left, a partially ovalocyte is visible

двоковогнутых и зазубренных клеток был больше, чем у спикულიрованных и сферических эритроцитов. Увеличение популяций спикулоцитов и сфероцитов произошло значительно раньше у женщин, страдающих от выкидышей на ранней стадии (ВРС) по сравнению с контрольными группами (здоровыми женщинами и беременными). Были показаны различные пути старения эритроцитов, более быстрое возникновение морфологических изменений эритроцитов при ВРС по сравнению с обеими контрольными группами, показана разница между шероховатостью мембраны свежих эритроцитов при ВРС и эритроцитов двух контрольных групп. Значительно более высокое значение среднеквадратичной шероховатости клеток в группе ВРС обусловлено более неравномерной складчатостью мембраны и появлением некоторых выступов, вероятно, вследствие нарушения целостности плазматической мембраны и/или начала микровезикуляции. Везикуляция зрелых эритроцитов способствует удалению дефектных участков мембраны эритроцитов. Известно, что при некоторых патологических ситуациях и в процессе старения эритроцитов везикуляция плазматической мембраны усиливается [5, 6]. Высвобождение микровезикул (микрочастиц) происходит в результате перераспределения фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина с внутреннего листка на внешний листок плазматической мембраны и происходит избирательно в богатых липидами микродоменах внутри плазматической мембраны [7].

Изменение формы клеток из-за частичной или полной потери деформируемости может происходить в результате различных патологических состояний [8], накопления активных форм кислорода (АФК) или как часть процесса старения эритроцитов [9]. Снижение эластичности является признаком сокращения продолжительности жизни клеток и может быть вызвано различными факторами, связанными с окислительным стрессом, измененным составом мембраны и патологическими состояниями.

Известно, что форма эритроцитов в значительной степени определяется механическими свойствами цитоскелета и обилием аденозинтрифосфата (АТФ) [10]. АТФ важен для поддержания дисковидной формы эритроцитов, поскольку истощение АТФ вызывает изменение от дискоцита к форме эхиноцита [11]. Например, серповидные эритроциты характеризуются повышенными показателями окислительного стресса и сниженным уровнем АТФ [12]. Было показано, что у беременных женщин уровень АТФ в эритроцитах значительно ниже, чем у небеременных [13].

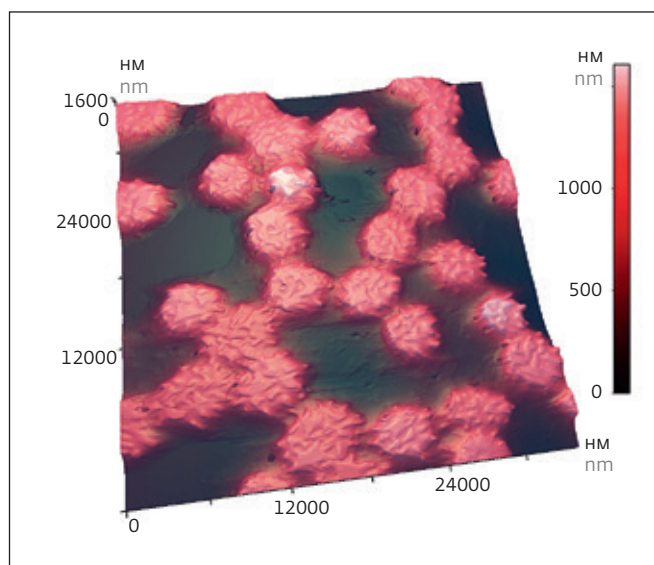


Рис.3. Эхиноциты в АСМ на воздухе

Fig.3. Echinocytes in AFM in the air

integrity. It plays an important role in maintaining shape, ensuring cell flexibility, and organizing lipids in the erythrocyte. A deficiency of any of the proteins can lead to changes in the structure of the erythrocyte cytoskeleton, which reduces the overall degree of membrane elasticity. This, in turn, may lead to the inability of the erythrocyte to change shape when passing through capillaries, causing microvascular complications and dysfunctions in oxygen transport.

Changes in erythrocyte morphology are associated with the aging of erythrocytes and pathological conditions. AFM allows obtaining high-resolution images of erythrocyte surfaces without the need for complex sample preparation, without fixation, in conditions close to natural, such as in buffered solutions (Fig.1). This allows visualization of the smallest surface structures, including the arrangement of nanometer-scale particles on the erythrocyte membrane, with lateral resolution of 0.5–1 nm and vertical resolution of 0.1–0.2 nm (Fig. 2) [1].

Studies have shown that during prolonged storage (up to 35 days at +4 °C), the diameter of blood cells decreases, while the Young's modulus of erythrocyte membranes significantly increases, which correlates with morphological changes: transformation of discocytes into echinocytes (Fig.3) and spherocytes, which are less suitable for blood transfusion purposes [2]. The average values and the width of distribution of the Young's modulus significantly increased



Повышенная жесткость мембраны характерна для эритроцитов, полученных от пациентов с нейродегенеративными заболеваниями по сравнению со здоровыми. В работе [14], используя атомно-силовую и традиционную оптическую микроскопию, провели ультраструктурный анализ эритроцитов как модели периферических клеток с характерными признаками для нейродегенеративных патологий – болезни Паркинсона (БП), бокового амиотрофического склероза (БАС) и болезни Альцгеймера (БА). Клетки крови при нейродегенеративных патологиях характеризуются уменьшенным количеством двояковогнутой дискообразной формы, меньшей шероховатостью поверхности и более высоким модулем Юнга по сравнению со здоровыми клетками. Двояковогнутая форма по-прежнему является преобладающей формой в клетках при БАС и БА, в то время как в морфологии БП доминируют зазубренные клетки.

Экспериментально установлено, что гемин и окислительные процессы в крови оказывают специфическое воздействие на наноструктуру мембран эритроцитов, образуя домены на поверхности. Характерный размер зернистых структур в доменах составляет 100–200 нм, что совпадает с характерным размером спектринового матрикса [15].

ИССЛЕДОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ И ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ

АСМ эффективно применяется для изучения изменений на молекулярном уровне в эритроцитах, вызванных окислением. Окислительный стресс, вызванный ультрафиолетовым (УФ) облучением, нарушает формируемую спектрином сеть цитоскелета, лежащую в основе мембраны эритроцитов, что приводит к морфологическим изменениям и потере типичной формы дискоцитов. Размер ячеек спектриновой сети увеличивается с примерно 80–200 нм в контрольных образцах до 600–1000 нм после воздействия УФ-излучения, что указывает на структурный распад [4, 5, 16, 17]. Лечение антиоксидантами может сохранить целостность спектриновой сетки и морфологию эритроцитов, что подтверждается исследованиями АСМ.

С помощью АСМ выявили изменения морфологии лейкоцитов при лейкомии – на поверхности появились игольчатые выступы [18]. При детальном рассмотрении изображения лейкоцитов можно оценить характер расположения на подложке, напоминающий сладжи. Белые кровяные клетки у пациентов с диабетом были более

in samples taken from patients with diabetes and smokers compared to samples taken from healthy donors; at the same time, the average values of the Young's modulus increase with the age of the patient.

In the work [4], normal aging of erythrocytes was visualized as transformations in cell shape (from normal biconcave discs through various morphological classes to complete loss of normal shape, i.e., dense spherocytes). All these changes were accompanied by a gradual decrease in the size and roughness of the cell membranes. Reduction in diameter was associated with a change in shape. Using AFM, it was established that the diameter of biconcave and serrated cells was larger than that of spiculated and spherical erythrocytes. Increasing of populations of spiculocytes and spherocytes occurred significantly earlier in women suffering from early-stage miscarriages (EMS) compared to the control groups (healthy women and pregnant women). Different pathways of red blood cell aging were demonstrated, with a faster onset of morphological changes in red blood cells during EMS compared to both control groups, and a difference in membrane roughness of fresh red blood cells during EMS compared to red blood cells from the two control groups. The significantly higher value of the root mean square roughness of the cells in the EMS group is due to a more uneven folding of the membrane and appearance of certain protrusions, likely due to disruption in plasma membrane integrity and/or the onset of microvesiculation. Vesiculation of mature red blood cells helps to remove defective areas of the erythrocyte membrane. It is known that in certain pathological situations and during the aging of erythrocytes, vesiculation of the plasma membrane is enhanced [5, 6]. The release of microvesicles (micro-particles) occurs as a result of redistribution of phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine from the inner leaflet to the outer leaflet of the plasma membrane and occurs selectively in lipid-rich microdomains within the plasma membrane [7].

The change in cell shape due to partial or complete loss of deformability can occur as a result of various pathological conditions [8], and accumulation of reactive oxygen species (ROS), or as part of the aging process of erythrocytes [9]. Decreased elasticity is a sign of reduced cell lifespan and can be caused by various factors related to oxidative stress, altered membrane composition, and pathological conditions.

It is known that the shape of red blood cells is largely determined by the mechanical properties



жесткими, чем лейкоциты у здоровых доноров. По сравнению со здоровыми донорами диаметр лейкоцитов и модуль Юнга были значительно увеличены, хотя высота клеток уменьшилась [19].

Эритроциты и лейкоциты у пациентов с диабетом демонстрируют изменения формы, повышенную жесткость и склонность к агрегации. В этом исследовании влияния диабета на эритроциты показано, что избыток глюкозы в крови приводит к значительной деформации формы эритроцитов и легкой коррозии на их поверхности, поскольку глюкоза может проходить через мембрану и окружать ее как оболочка. Эритроциты увеличиваются в размере и склеиваются, что в конечном итоге приводит к повышению вязкости и замедлению подвижности эритроцитов [20]. В данном исследовании также сравнили влияние диабета и курения на такие параметры, как диаметр, глубина впадины и шероховатость эритроцитов. Оказалось, что курение существенно сильнее влияет на изменение всех трех параметров, чем диабет: для заядлых курильщиков шероховатость увеличивается в 5 раз, глубина впадины уменьшается в 3,3 раза, эритроциты принимают неправильную форму.

АСМ-исследование клеток крови при диабете выявило различие в морфологии: эритроциты из здоровой группы представляют собой нормоцит: круглый, с видимой впадиной; эритроциты группы с преддиабетом имеют нерегулярную форму, эритроциты удлинённые, а вогнутость находится не в центре. Изображения эритроцитов с метаболическим синдромом напоминают стоматоцит. Группа больных сахарным диабетом 2 типа имеет неправильную морфологию эритроцитов («гребневидный» эритроцит) [21].

Исследование клеток крови при талассемии показало, что эритроциты становятся зазубренными, имеют разную морфологию, анизоцитозную и гипохромную форму. Лишь немногие клетки представлены в форме двояковогнутого диска. Клетки меньше по размеру и деформированы с образованием множества больших отверстий. Эритроциты при железодефицитной анемии имеют еще более деформированную морфологию, чем при талассемии: клетки представлены в форме эллиптоцита, круглыми, овальными, и в центре эритроцитов наблюдается большее набухание [22].

С помощью АСМ было обнаружено, что эритроциты пациентов с мегалобластной анемией имели больший размер, однако их высота, средняя шероховатость, значение пик-впадина R_p-v (представляющее собой разницу между максимальной и минимальной высотой по оси Z на

of the cytoskeleton and abundance of adenosine triphosphate (ATP) [10]. ATP is important for maintaining the disc shape of red blood cells, as depletion of ATP causes a change from discocyte to echinocyte form [11]. For example, sickle-shaped erythrocytes are characterized by elevated oxidative stress levels and lower ATP levels [22]. It has been shown that in pregnant women, the ATP level in erythrocytes is significantly lower than in non-pregnant women [13].

Increased membrane stiffness is characteristic of erythrocytes obtained from patients with neurodegenerative diseases compared to healthy individuals. In the study [14], using atomic force and traditional optical microscopy, ultrastructural analysis of erythrocytes was conducted as a model of peripheral cells with characteristic signs for neurodegenerative pathologies - Parkinson's disease (PD), amyotrophic lateral sclerosis (ALS), and Alzheimer's disease (AD). Blood cells in neurodegenerative pathologies are characterized by a reduced number of biconcave disc-shaped cells, lower surface roughness, and a higher Young's modulus compared to healthy cells. The biconcave shape remains the predominant form in cells in ALS and AD, while jagged cells dominate the morphology in PD.

It has been experimentally established that gemin and oxidative processes in the blood have a specific effect on the erythrocyte membranes nanostructure, forming domains on the surface. The characteristic size of the granular structures in the domains is 100-200 nm, which coincides with the characteristic size of the spectrin matrix [15].

STUDY OF OXIDATIVE AND REDOX PROCESSES

AFM is effectively used to study changes at the molecular level in erythrocytes caused by oxidation. Oxidative stress induced by ultraviolet (UV) radiation disrupts the spectrin network of the cytoskeleton underlying the erythrocyte membrane, leading to morphological changes and loss of the typical discocyte shape. The size of the spectrin network cells increases from approximately 80-200 nm in control samples to 600-1000 nm after UV radiation exposure, indicating structural breakdown [4, 5, 16, 17]. Treatment with antioxidants may preserve integrity of the spectrin network and morphology of erythrocytes, as confirmed by AFM studies.

Using AFM, changes in leukocytes morphology in leukemia were identified - spike-like protrusions appeared on the surface [18]. Upon closer examination of the images of leukocytes, arrangement on the substrate resembles sludge.



поверхности клетки в области анализа) и площадь поверхности были ниже по сравнению с контрольной группой [23].

У пациентов отделения анестезиологии и реанимации с черепно-мозговой травмой, ишемическим и геморрагическим инсультом, отеком головного мозга, постгипоксической энцефалопатией наблюдались различные формы клеток крови, на поверхности мембраны эритроцитов возникали локальные дефекты: дефекты пеллора, тора, наноструктуры. Ряд дефектов является стартовым механизмом развития тотальных повреждений мембран. У всех пациентов, включенных в исследование, наблюдали $16 \pm 7\%$ активных тромбоцитов на мазке. Тромбоциты входят в число показателей острой фазы воспаления при сепсисе, опухолях и кровотечениях. Увеличение количества тромбоцитов является сигналом развития воспалительных патологий [24].

ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ (МАЛЯРИЯ, COVID-19, ВИЧ)

В работе [25] обнаружили изменение в геометрии эритроцитов: увеличение на 14% в диаметре и уменьшение на 30% в высоте по сравнению с контрольной группой. С помощью АСМ выявили изменения структуры эритроцитов при COVID-19: увеличение диаметра клеток с 9 до 10,5 мкм, заметно снижение высоты впадины в центре диска, увеличение модуля Юнга с 4,5 до 8 кПа.

С помощью АСМ были зафиксированы аномальные формы эритроцитов, например, акантоциты [26]. Также были обнаружены клетки в мазке крови в форме эхиноцитов после COVID-19 [27]. При малярии паразиты изменяют мембрану эритроцитов, формируя выступы, которые способствуют адгезии к стенкам сосудов [28]. Также на поверхности были обнаружены резкие изменения сети спектрина после заражения, то есть сеть спектрина частично разрушается на определенной стадии заражения.

ВЫВОДЫ

В этом обзоре обобщены результаты недавних исследований, демонстрирующие возможности АСМ в исследовании эритроцитов и их применение в клинической практике. Эластичность мембраны эритроцита является очень важным фактором в определении состояния здоровья. Ее количественное определение имеет решающее значение для понимания механизмов, приводящих к нарушению эластичности эритроцитов. Методы АСМ можно успешно применять также для контроля терапевтических процедур.

White blood cells from diabetic patients were stiffer than leukocytes from healthy donors. Compared to healthy donors, the diameter of the leukocytes and the Young's modulus were significantly increased, although the height of the cells decreased [19].

Erythrocytes and leukocytes in patients with diabetes show changes in shape, increased stiffness, and a tendency to aggregate. This study on the effects of diabetes on erythrocytes demonstrates that excess glucose in the blood leads to significant deformation of erythrocyte shape and slight corrosion on their surface, as glucose can pass through the membrane and encase it like a shell. Red blood cells increase in size and stick together, ultimately leading to increased viscosity and slowed mobility of red blood cells [20]. This study also compared the effects of diabetes and smoking on parameters such as diameter, pit depth, and roughness of red blood cells. It turned out that smoking has a significantly stronger effect on the changes of all three parameters than diabetes: for heavy smokers, roughness increases by 5 times, pit depth decreases by 3.3 times, and red blood cells take on an irregular shape.

The AFM study of blood cells in diabetes revealed a difference in morphology: erythrocytes from the healthy group are normocytes: round, with a visible indentation; erythrocytes from the prediabetes group have an irregular shape, elongated erythrocytes, and indentation is not in the center. Images of erythrocytes from patients with metabolic syndrome resemble stomatocytes. The group of patients with type 2 diabetes has an abnormal morphology of erythrocytes ("crested" erythrocytes) [21].

A study of blood cells in thalassemia showed that erythrocytes become jagged, have various morphologies, are anisocytotic, and take on a hypochromic form. Only a few cells are represented in the form of a biconcave disc. The cells are smaller in size and deformed, with formation of numerous large holes. Erythrocytes in iron deficiency anemia have an even more deformed morphology than in thalassemia: the cells are presented in the form of ellipsoids, round, oval, and there is greater swelling in the center of the erythrocytes [22].

Using AFM, it was discovered that the red blood cells of patients with megaloblastic anemia had a larger size; however, their height, average roughness, peak-to-valley value R_p-v (which represents the difference between the maximum and minimum height along the Z-axis on the cell surface in the area of analysis), and surface area were lower compared to the control group [23].



АСМ позволяет детально исследовать форму, рельеф и наноструктуру мембран эритроцитов, выявляя изменения, связанные с различными физиологическими и патологическими состояниями, такими как интоксикация, диабет, мегалобластная анемия и другие заболевания.

АСМ дает возможность измерять ключевые морфометрические параметры эритроцитов – размеры, соотношение осей, глубину вогнутости диска, толщину и шероховатость поверхности. Эти характеристики отражают деформируемость и упругие свойства мембраны, которые важны для прохождения эритроцитов через узкие капилляры и поддержания их функциональной активности в кровотоке. Инструментарий программного обеспечения "ФемтоСкан Онлайн" позволяет получить морфологические параметры клетки в количественном виде: среднюю и среднеквадратичную шероховатость, оценить глубину впадины эритроцита, а также другие параметры [29].

Кроме того, АСМ позволяет выявлять микроскопические повреждения и дефекты мембран, которые могут возникать под воздействием токсинов, стрессовых факторов или при хранении крови. Это делает АСМ ценным инструментом для диагностики и мониторинга заболеваний, связанных с изменениями морфологии и механики эритроцитов.

АСМ облегчает обнаружение морфологических и биомеханических изменений в эритроцитах, связанных с различными заболеваниями крови и системными заболеваниями. Изменения жесткости и эластичности мембраны служат биомаркерами патологических состояний, что дает преимущества по сравнению с традиционными биохимическими анализами, которые могут быть недостаточно чувствительными и требовать больших объемов образцов. АСМ также позволяет проводить визуализацию клеток крови *in situ* и *in vivo*, что способствует ранней диагностике и мониторингу прогрессирования заболеваний.

Таким образом, атомно-силовая микроскопия обеспечивает комплексное морфологическое и структурное исследование эритроцитов, что способствует лучшему пониманию их физиологии и патологии на нанометровом уровне.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова. ПО "ФемтоСкан Онлайн" предоставлено ООО НПП "Центр перспективных технологий", www.femtoscan.ru

In patients in the department of anesthesiology and intensive care with traumatic brain injury, ischemic and hemorrhagic stroke, cerebral edema, and post-hypoxic encephalopathy, various forms of blood cells were observed, and local defects appeared on the surface of the membranes of erythrocytes: defects of pallor, torus, and nanostructures. A number of defects serve as the starting mechanisms for development of total membrane damage. In all patients included in the study, $16 \pm 7\%$ of active platelets were observed on the smear. Platelets are among the indicators of the acute phase of inflammation in sepsis, tumors, and hemorrhages. An increase in the number of platelets is a signal for development of inflammatory pathologies [24].

INFECTIOUS DISEASES (MALARIA, COVID-19, HIV)

The work [25] discovered a change in the erythrocytes geometry: an increase of 14% in diameter and a decrease of 30% in height compared to the control group. Using AFM, changes in the erythrocytes structure were identified in COVID-19: an increase in cell diameter from 9 to 10.5 micrometers, a noticeable decrease in the height of the dip in the center of the disk, and an increase in the Young's modulus from 4.5 to 8 kPa.

Using AFM, abnormal forms of erythrocytes were recorded, such as acanthocytes [26]. Echinocytes were also found in the blood smear after COVID-19 [27]. In malaria, parasites alter the erythrocyte membrane, forming protrusions that promote adhesion to vessel walls [28]. Sharp changes in the spectrin network were also found on the surface after infection, i.e., the spectrin network is partially destroyed at a certain stage of infection.

CONCLUSIONS

This review summarizes the results of recent studies demonstrating the capabilities of AFM in study of erythrocytes and their application in clinical practice. Elasticity of the erythrocyte membrane is a very important factor in determining health status. Quantitative determination is crucial for understanding the mechanisms leading to the disruption of red blood cell elasticity. AFM methods can also be successfully applied for monitoring therapeutic procedures.

AFM allows for detailed study of the shape, relief, and nanostructure of erythrocyte membranes, revealing changes associated with various physiological and pathological conditions, such as intoxication, diabetes, megaloblastic anemia, and other diseases.



ИНФОРМАЦИЯ О РЕЦЕНЗИРОВАНИИ

Редакция благодарит анонимного рецензента (рецензентов) за их вклад в рецензирование этой работы, а также за размещение статей на сайте журнала и передачу их в электронном виде в НЭБ eLIBRARY.RU.

Декларация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Rakshak R., Bhatt S. et al.** Characterizing morphological alterations in blood related disorders through Atomic Force Microscopy. *Nanotheranostics*. 2024. Vol. 8. No. 3. PP. 330–343. <https://doi.org/10.7150/ntno.93206>
2. **Lamzin I.M., Khayrullin R.M.** The quality assessment of stored red blood cells probed using atomic-force microscopy. *Anat Res Int*. 2014. P. 869683. <https://doi.org/10.1155/2014/869683>
3. **Lekka M., Fornal M. et al.** Erythrocyte stiffness probed using atomic force microscope. *Biorheology*. 2005. Vol. 42. No. 4. PP. 307–317. <https://doi.org/10.1177/0006355X2005042004004>
4. **Langari A., Strijkova V. et al.** Morphometric and Nanomechanical Features of Erythrocytes Characteristic of Early Pregnancy Loss. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23. No. 9. P. 4512. <https://doi.org/10.3390/ijms23094512>
5. **Kaczmarska M.; Grosicki M. et al.** Temporal sequence of the human RBCs' vesiculation observed in nano-scale with application of AFM and complementary techniques. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med*. 2020. Vol. 28. P. 102221. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102221>
6. **Li H., Lykotrafitis G.** Vesiculation of healthy and defective red blood cells. *Phys. Rev. E Stat. Nonlinear Soft Matter Phys*. 2015. Vol. 92. P. 012715. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.92.012715>
7. **Said A.S., Rogers S.C., Doctor A.** Physiologic impact of circulating RBC microparticles upon blood-vascular interactions. *Front. Physiol*. 2017. Vol. 8. P. 1120. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.01120>
8. **McMahon Timothy J.** Red Blood Cell Deformability, Vasoactive Mediators, and Adhesion. *Front. Physiol*. 2019. Vol. 10. P. 1417. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01417>

AFM allows for measurement of key morphometric parameters of erythrocytes - size, axial ratio, depth of disc concavity, thickness, and surface roughness. These characteristics reflect deformability and elastic properties of the membrane, which are important for the passage of erythrocytes through narrow capillaries and for maintaining their functional activity in the bloodstream. The Femtoscan Online software toolkit allows for quantitative determination of cell morphological parameters: average and root mean square roughness, assessment of the erythrocyte indentation depth, and also other parameters [29].

In addition, AFM allows for identification of microscopic damage and defects in membranes that may occur due to toxins, stress factors, or during blood storage. This makes AFM a valuable tool for the diagnosis and monitoring of diseases related to changes in morphology and mechanics of erythrocytes.

AFM facilitates morphological and biomechanical changes detection in erythrocytes associated with various blood diseases and systemic conditions. Changes in membrane stiffness and elasticity serve as biomarkers of pathological states, providing advantages over traditional biochemical analyses, which may not be sensitive enough and require larger sample volumes. AFM also allows for visualization of blood cells *in situ* and *in vivo*, facilitating early diagnosis and monitoring of disease progression.

Thus, atomic force microscopy provides the comprehensive morphological and structural study of red blood cells, which contributes to a better understanding of their physiology and pathology at the nanometer level.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was performed under the state order of the Lomonosov Moscow State University. FemtoScan Online software is provided by "Advanced Technologies Center", www.femtoscanner.ru

PEER REVIEW INFO

Editorial board thanks the anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work. It is also grateful for their consent to publish papers on the journal's website and SEL eLibrary eLIBRARY.RU.

Declaration of Competing Interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.



9. Barshtein G., Pajic-Lijakovic I., Gural A. Deformability of Stored Red Blood Cells. *Front. Physiol.* 2021. Vol. 12. P. 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.722896>
10. Gov N., Safran S.A. Red blood cell shape and fluctuations: Cytoskeleton confinement and ATP activity. *J. Biol. Phys.* 2005. Vol. 31. PP. 453–464. <https://doi.org/10.1007/s10867-005-6472-7>
11. Lim H.W.G., Wortis M., Mukhopadhyay R. Stomatocyte-discocyte-echinocyte sequence of the human red blood cell: Evidence for the bilayer-couple hypothesis from membrane mechanics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. Vol. 99. PP. 16766–16769. <https://doi.org/10.1073/pnas.202617299>
12. Sabina R.L., Wandersee N.J., Hillery C.A. Ca^{2+} -CaM activation of AMP deaminase contributes to adenine nucleotide dysregulation and phosphatidylserine externalization in human sickle erythrocytes. *Br. J. Haematol.* 2009. Vol. 144. PP. 434–445. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07473.x>
13. Marumoto Y., Kaibara M., Taniguchi I. Erythrocyte deformability and adenosine triphosphate (ATP) levels in normal pregnancy and puerperium. *Nihon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi.* 1984. Vol. 36. PP. 2079–2084.
14. Strijkova-Kenderova V., Todinova S. *et al.* Morphometry and Stiffness of Red Blood Cells—Signatures of Neurodegenerative Diseases and Aging. *Int. J. Mol. Sci.* 2022. Vol. 23. P. 227. <https://doi.org/10.3390/ijms23010227>
15. Sergunova V.A., Chernyaev A.P. *et al.* Nanostructure of erythrocyte membranes in blood intoxication. A study using atomic force microscopy. *Almanac of Clinical Medicine.* 2016. Vol. 44. PP. 234–241. <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2016-44-2-234-241>
16. Kozlova E., Chernysh A. *et al.* Atomic force microscopy study of red blood cell membrane nanostructure during oxidation-reduction processes. *J Mol Recognit.* 2018. Vol. 31. No. 10. P. e2724. <https://doi.org/10.1002/jmr.2724>
17. P.H.J. Wilding. Causes of obesity. *Pract Diabetes Int.* 2001. <https://doi.org/10.1002/pdi.277>
18. Gaman A., Osiac E. *et al.* Surface morphology of leukemic cells from chronic myeloid leukemia under atomic force microscopy. *Current health sciences journal.* 2013. Vol. 39. No. 1. PP. 45–47.
19. Alexandrova A., Antonova N., Skorkina M.Y. *et al.* Evaluation of the elastic properties and topography of leukocytes' surface in patients with type 2 diabetes mellitus using atomic force microscope. *Ser. Biomech.* 2017. Vol. 31. PP. 16–24.
20. AlSalhi S., Devanesan M. S. *et al.* Impact of Diabetes Mellitus on Human Erythrocytes: Atomic Force Microscopy and Spectral Investigations. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2018. Vol. 15. P. 2368. <https://doi.org/10.3390/ijerph15112368>
21. Loyola-Leyva A., Loyola-Rodríguez J.P. *et al.* Application of atomic force microscopy to assess erythrocytes morphology in early stages of diabetes. A pilot study. *Micron.* 2021. Vol. 141. P. 102982. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2020.102982>
22. Saira T. *et al.* Diagnosis of thalassemia and iron deficiency anemia using confocal and atomic force microscopy. *Laser Phys. Lett.* 2017. Vol. 14. P. 115703. <https://doi.org/10.1088/1612-202X/aa8bca>
23. Wu Q., Liu J. *et al.* Mechanism of megaloblastic anemia combined with hemolysis. *Bioengineered.* 2021. Vol. 12. No. 1. PP. 6703–6712. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1952366>
24. Grechko A.V., Molchanov I.V., Sergunova V.A., Kozlova E.K., Chernysh A.M. Erythrocyte membrane defects in patients with impaired brain function (pilot study). *General Reanimatology.* 2019. Vol. 15. No. 6. PP. 11–20. <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2019-6-11-20>
25. Sales M.V., Tanabe E.L. *et al.* COVID-19 Infection Changes the Functions and Morphology of Erythrocytes: A Multidisciplinary Study. *Journal of the Brazilian Chemical Society.* 2023. Vol. 34. PP. 1185–1196. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20230031>
26. Sovetnikov T.O., Akhmetova A.I. *et al.* Scanning probe microscopy in assessing blood cells roughness. *Bio-Medical Engineering.* 2023. <https://doi.org/10.1007/s10527-023-10253-3>
27. Trukhova A.A., Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. 3D visualization of erythrocytes by atomic force microscopy. *NANOINDUSTRY.* 2023. Vol. 16. No. 3–4. <https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.3-4.180.184>
28. Shi H., Li A., Yin J. *et al.* AFM study of the cytoskeletal structures of malaria infected erythrocytes. *IFMBE.* 2009. Vol. 23. PP. 1965–68.
29. Sinitsyna O.V., Akhmetova A.I., Yaminsky I.V. Atomic force microscopy of erythrocytes: new diagnostic possibilities. *Medicine and High Technologies.* 2022. Vol. 1. PP. 9–12. <https://doi.org/10.34219/2306-3645-2022-12-1-9-12>

ПРИ ПОДДЕРЖКЕ



ОРГАНИЗАТОРЫ



РОССИЙСКОЕ ОБЩЕСТВО
РЕНТГЕНОЛОГОВ И РАДИОЛОГОВ



ЦЕНТР ДИАГНОСТИКИ
И ТЕЛЕМЕДИЦИНЫ



V РОССИЙСКИЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ САММИТ



ДИАГНОПОЛИС
МЕЖДУНАРОДНАЯ ВЫСТАВКА
INTERNATIONAL EXHIBITION
DIAGNOROLIS

1-3 ОКТЯБРЯ 2025

МОСКВА, КРОКУС ЭКСПО



НА ПРАВАХ РЕКЛАМЫ

rdsummit.ru