

V Всероссийский форум - олимпиады "Нанотехнологии - прорыв в будущее"  
Министерство общего и профессионального образования РФ  
Муниципальное общеобразовательное учреждение «Лицей»

## **Изучение изменения структуры крови человека**

Подготовила: Петрова Дарья Сергеевна  
ученица 10 «А» класса МОУ « Лицей»  
Руководитель: Аминов Евгений Витальевич  
учитель физики, высшей квалификационной категории

г. Лесной  
2011

## Содержание

	стр.
<b>Введение</b>	3
<b>Цель работы</b>	4
<b>История исследований</b>	5
<b>Теоретическая часть.</b>	6
<b>Глава 1 Кровь.</b>	6
1.1 Определение крови.	6
1.2 Компоненты крови.	7
1.2.1 Плазма.	7
1.2.2 Белки плазмы.	7
1.2.3 Эритроциты.	8
1.2.4 Гемоглобин.	8
1.2.5 Лейкоциты.	9
1.2.6 Лимфоциты.	9
1.2.7 Тромбоциты.	10
<b>Практическая часть.</b>	11
Техника безопасности при заборе анализа крови и использовании наноборудования.	11
1 эксперимент. Опыт № 1. Тема: Рассмотрение состава крови.	12
2 эксперимент. Лабораторная работа № 1. Тема: Измерение размеров эритроцитов.	13
3 эксперимент. Лабораторная работа № 2. Тема: Наблюдение за изменением формы эритроцитов в течение времени после забора крови.	15
<b>Заключение</b>	16
<b>Список литературы</b>	17
<b>Тезаурус</b>	18
<b>Приложение 1.</b>	21
Таблица 1. Компоненты плазмы (в миллиграммах на 100 миллилитров)	22
Таблица 2. Содержание лейкоцитов в крови	22
<b>Приложение 2. Приборы.</b>	23
<b>Приложение 3. Фотографии.</b>	24

## Введение

С давних времен человеческую кровь наделяли мистическими свойствами. Люди приносили жертвы богам с непременным обрядом кровопускания. Прикосновением свеженадрезанных ран скреплялись священные клятвы. «Плачущий» кровью деревянный идол был последним аргументом жрецов в попытке убедить в чем-либо соплеменников. Древние греки считали кровь хранительницей свойств человеческой души.

Современная наука проникла во многие тайны крови, но исследования продолжают по сей день... Медицина, иммунология, геногеография, биохимия, генетика изучают биофизические и химические свойства крови в комплексе. Сегодня мы знаем, что представляют собой группы крови человека. Высчитан оптимальный состав крови человека, придерживающегося здорового образа жизни. От качественного состава крови зависит наше здоровье. А этот состав определяется тем, что мы едим, что мы пьем, что мы вдыхаем - что мы получаем из внешней среды. Все эти вещества, получаемые нами, формируют состав крови и доставляются с кровью каждой клетке, каждому органу, всем тканям организма.

Чтобы кровь была полноценной, она обязательно должна получать - свет, воду, воздух, обогащенный кислородом, и все то, в чем есть энергия Земли - в частности, минеральные вещества. Они, так же как и другие необходимые вещества - глюкоза, аминокислоты, микроэлементы и витамины, могут доставляться в организм только с пищей. Существует лишь один вид пищи, в котором все это содержится в необходимых человеку пропорциях, - это фрукты.

Я выбрала тему «Изучение изменения структуры крови человека» для исследования, потому что кровь под микроскопом - это своеобразное зеркало состояния человеческого организма и по одной капле можно определить, что в данный момент беспокоит человека, и даже что он съел. Актуальность темы состоит в том, что благодаря внедрению инновационных технологий, мы всё больше находим нового и начинаем лучше понимать давно изученные вещи, в том числе и кровь. Кроме того, внедрение в практику медиков новых высокотехнологичных методов диагностики позволяют эффективно бороться с заболеваниями.

**Цель работы:**

Изучение изменения структуры крови человека с помощью оптического микроскопа и сканирующего зондового микроскопа (NanoEducator СЗМ).

**Объект исследования:**

Кровь человека.

**Предмет исследования:**

Изучение изменения структуры крови человека с течением времени.

**Гипотеза:**

Кровь с течением времени изменяется.

**Задачи проекта:**

- 1) Изучить литературу по данной тематике;
- 2) Исследовать кровь с помощью оптического и сканирующего зондового микроскопа;
- 3) Исследовать изменения, происходящие в крови с течением времени;
- 4) Измерение размеров эритроцитов.

**Проблема:**

В работе остановимся на следующих вопросах:

- 1) Как и от чего меняется структура крови человека?
- 2) Что происходит при этом изменении?

## История исследования крови

С незапамятных времен люди поняли, какое важное значение для организма имеет кровь. Неоднократно им приходилось видеть, что раненое животное или человек, потерявшие много крови, умирают. Эти наблюдения привели людей к мысли, что именно в крови заключается жизненная сила.

В глубокой древности кровь расценивали как лечебное средство. Гиппократ назначал пить кровь душевнобольным, больным эпилепсией. В произведениях Плиния, Гомера есть упоминания о том, что ослабевшим людям, старикам давали пить свежую кровь погибших гладиаторов прямо на аренах римского цирка. В произведениях греческих и римских философов – в начале нашей эры - высказывалась идея омоложения пожилых людей вливанием в их сосуды крови молодых животных. Несмотря на то, что в эпоху средневековья инквизиция свирепо расправлялась со всеми, кто осмеливался высказывать передовые взгляды, сами «отцы» церкви не спешили покидать грешную землю. Так, папа Иннокентий VIII с целью продлить себе жизнь омоложением принимал лекарство, приготовленное из крови трех десятилетних мальчиков. Вскоре, впрочем, папа умер, одновременно погубив три молодые жизни.

Многие века истинное значение крови для организма оставалось загадкой, хотя изучать процесс кровообращения ученые начали с давних времен. Сначала им приходилось скрывать свои исследования, потому что за смелые попытки раскрыть тайны природы всемогущая в те времена церковь жестоко карала. Но вот миновало мрачное средневековье. Наступила эпоха Возрождения, освободившая науку от церковного гнета.

Впервые состав крови человека исследовал врач - итальянец Марчелло Мальпиги. Он принял плавающие в плазме форменные элементы за жировые шарики. Клетки крови еще не раз называли то воздушными шариками, то животными, принимая их за разумных существ.

XVII век дал человечеству два замечательных открытия: англичанин У. Гарвей открыл закон кровообращения, а голландец А. Левенгук создал микроскоп, позволивший изучать строение всех тканей человеческого организма и клеточный состав самой удивительной ткани - крови. Термин «кровяные клетки» или «кровяные шарики» ввел в научный обиход именно Антоний Левенгук. В это время и возникла наука о крови - гематология. Однако подлинный прогресс гематологии начался с XIX в.; тогда многие ученые за границей и в России занялись изучением состава, свойств и роли крови в организме. Ученые выяснили, что через стенки тончайших кровеносных сосудов - капилляров кровь снабжает все ткани и клетки организма кислородом, водой, питательными веществами, солями и витаминами. Вместе с тем она уносит из тканей образовавшиеся в процессе обмена веществ углекислоту, аммиак, мочевину, мочевую кислоту и другие вредные продукты распада, которые выводятся наружу через легкие, почки, кишечник и кожу.

Благодаря своей подвижности кровь поддерживает постоянную связь между всеми органами и тканями человеческого тела, а содержащиеся в ней химические вещества, главным образом гормоны, осуществляют их взаимное влияние друг на друга.

## Теоретическая часть.

### Глава 1 Кровь.

#### 1.1 Определение крови.

Кровь - важнейшая часть внутренней среды организма, выполняющая многообразные физиологические функции. В пищеварительном канале она обогащается составными частями пищи, растворёнными в воде, и разносит их отсюда по всему организму.

В лёгких кровь обогащается кислородом, который доставляется всем органам и тканям, где и совершается обмен веществ.

В органах и тканях в кровь поступают остаточные продукты обмена веществ, которые доставляются ею к органам выделения: почкам, лёгким, коже. Часть продуктов обмена удаляется из организма органами пищеварения.

Химический состав крови в значительной мере отражает обмен веществ. В кровь из желез внутренней секреции поступают гормоны, осуществляющие гуморальное взаимодействие между органами и тканями. Движение крови по кровеносным сосудам обеспечивает постоянное выравнивание тепла, образуемого в результате обмена веществ в органах и тканях, и сохранение относительного постоянства температуры. Кровью также выполняется защитная функция поглощения и разрушения микробов, чужеродных одноклеточных организмов и инородных веществ. Клетки тканей отделены от кровяного русла эндотелием и слоем соединительной ткани, поэтому кровь с клетками тела непосредственно не соприкасается.

Различные питательные вещества в водных растворах переходят из крови в межклеточные и межтканевые щели, а часть продуктов обмена веществ - в обратном направлении в кровь. Жидкость, находящаяся в межклеточных и межтканевых промежутках, постоянно движется и попадает в систему лимфатических сосудов, из которых она поступает в общий кровоток. Эта жидкость (лимфа), представляет собой часть плазмы крови, прошедшей через стенки кровеносных сосудов и межтканевые пространства. Движение лимфы обеспечивается доставкой клеткам тела питательных веществ и кислорода и удаление остаточных продуктов обмена веществ.

Кровь - непрозрачная клейкая жидкость красного цвета, солоноватого вкуса, состоящая из двух частей: плазмы и форменных элементов - эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. Количество крови у человека составляет в среднем 7% веса всего тела (с колебаниями 5-9%). У человека в нормальных условиях в покое вся кровь делится на две части. Одна часть крови, равная 40-50% всей ее массы, циркулирует по кровеносным сосудам всего тела - циркулирующая кровь, а остальная часть находится в депо - депонированная кровь. Депонированная кровь сосредоточена в капиллярах селезенки, печени и подкожной клетчатки и почти не смешивается с циркулирующей кровью.

Повышение температуры тела, мышечная работа, удушье, вдыхание углекислого газа, сильные переживания - эмоции, введение в кровь гормона надпочечника - адреналина - вызывают увеличение количества циркулирующей крови за счет крови, выбрасываемой из депо. По подсчетам в селезенке застаивается 16%, в печени 20%, а в коже 10% всей массы крови. Значение депонирования крови заключается в том, что при уменьшении количества циркулирующей крови благодаря ее застаиванию в депо падает нагрузка на сердце во время покоя организма. А при кровопотерях и при указанных выше условиях (мышечная работа и т. д.), в случаях необходимости в экстренном увеличении количества циркулирующей крови, рефлекторно происходит ее выбрасывание из депо в кровяное русло. Необходимо учесть, что депонированная кровь, в силу механических причин и всасывания воды из плазмы в ткани, содержит больше форменных элементов, чем

циркулирующая кровь. Так, количество эритроцитов в селезеночной крови относится к их количеству в циркулирующей крови, как 3:2. Поэтому поступление депонированной крови в общее кровяное русло вызывает не только абсолютное, но и относительное возрастание в крови количества эритроцитов и гемоглобина.

Поступление в организм жидкостей на короткое время увеличивает общее количество крови, так как после всасывания в кишечнике вода переходит в кровь. При лишении организма воды и, особенно при кровопотерях количество крови временно уменьшается.

Быстрое уменьшение объема циркулирующей крови при кровопотерях более опасно, чем потеря форменных элементов, так как оно сопровождается падением кровяного давления. Медленная потеря даже больших количеств крови менее опасна, чем быстрая потеря меньших количеств крови. Медленная потеря всех эритроцитов может еще не привести к смерти. Быстрая потеря при артериальном кровотечении, всего количества крови ведет к смерти. [6]

## **1.2 Компоненты крови.**

Рассмотрим более подробно состав плазмы и клеточных элементов крови.

### **1.2.1 Плазма.**

После отделения взвешенных в крови клеточных элементов остается водный раствор сложного состава, называемый плазмой. Как правило, плазма представляет собой прозрачную или слегка опалесцирующую жидкость, желтоватый цвет которой определяется присутствием в ней небольшого количества желчного пигмента и других окрашенных органических веществ. Однако после потребления жирной пищи в кровь попадает множество капелек жира (хиломикронов), в результате чего плазма становится мутной и маслянистой.

Плазма участвует во многих процессах жизнедеятельности организма. Она переносит клетки крови, питательные вещества и продукты метаболизма и служит связующим звеном между всеми экстравакулярными (т.е. находящимися вне кровеносных сосудов) жидкостями; последние включают, в частности, межклеточную жидкость, и через нее осуществляется связь с клетками и их содержимым. Таким образом, плазма контактирует с почками, печенью и другими органами и тем самым поддерживает постоянство внутренней среды организма, т.е. гомеостаз.

Основные компоненты плазмы и их концентрации приведены в табл. 1.(приложение 1) Среди растворенных в плазме веществ – низкомолекулярные органические соединения (мочевина, мочевая кислота, аминокислоты и т.д.); большие и очень сложные по структуре молекулы белков; частично ионизированные неорганические соли. К числу наиболее важных катионов (положительно заряженных ионов) относятся катионы натрия ( $\text{Na}^+$ ), калия ( $\text{K}^+$ ), кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) и магния ( $\text{Mg}^{2+}$ ); к числу важнейших анионов (отрицательно заряженных ионов) - хлорид-анионы ( $\text{Cl}^-$ ), бикарбонат ( $\text{HCO}_3^-$ ) и фосфат ( $\text{HPO}_4^{2-}$  или  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ). Основные белковые компоненты плазмы - альбумин, глобулины и фибриноген.

### **1.2.2. Белки плазмы.**

Из всех белков в наибольшей концентрации в плазме присутствует альбумин, синтезируемый в печени. Он необходим для поддержания осмотического равновесия, обеспечивающего нормальное распределение жидкости между кровеносными сосудами и экстравакулярным пространством. При голодании или недостаточном поступлении белков с пищей содержание альбумина в плазме падает, что может привести к повышенному накоплению воды в тканях (отек). Это состояние, связанное с белковой недостаточностью, называется голодным отеком. В плазме присутствуют глобулины нескольких типов, или классов, важнейшие из которых обозначаются греческими буквами  $\alpha$  (альфа),  $\beta$  (бета)

и  $\gamma$  (гамма), а соответствующие белки -  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma_1$  и  $\gamma_2$ . После разделения глобулинов (методом электрофореза) антитела обнаруживаются лишь во фракциях  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$  и  $\beta$ . Хотя антитела часто называют гамма-глобулинами, тот факт, что некоторые из них присутствуют и в  $\beta$ -фракции, обусловил введение термина «иммуноглобулин». В  $\alpha$ - и  $\beta$ -фракциях содержится множество различных белков, обеспечивающих транспорт в крови железа, витамина В12, стероидов и других гормонов. В эту же группу белков входят и факторы коагуляции, которые наряду с фибриногеном участвуют в процессе свертывания крови.

Основная функция фибриногена состоит в образовании кровяных сгустков (тромбов). В процессе свертывания крови, фибриноген превращается в фибрин, который и составляет основу кровяного сгустка; не содержащая фибриногена плазма, обычно имеющая вид прозрачной жидкости бледно-желтого цвета, называется сывороткой крови.

### **1.2.3 Эритроциты.**

Красные кровяные клетки, представляют собой круглые диски диаметром 7,2-7,9 мкм и средней толщиной 2 мкм (мкм = микрон = 1/1000 м). В 1 мм<sup>3</sup> крови содержится 5-6 млн. эритроцитов. Они составляют 44-48% общего объема крови.

Эритроциты имеют форму двояковогнутого диска, т.е. плоские стороны диска как бы сжаты, что делает его похожим на пончик без дырки. В зрелых эритроцитах нет ядер. Они содержат главным образом гемоглобин, концентрация которого во внутриклеточной водной среде около 34%. [В пересчете на сухой вес содержание гемоглобина в эритроцитах - 95%; в расчете на 100 мл крови содержание гемоглобина составляет в норме 12-16 г (12-16 г%), причем у мужчин оно несколько выше, чем у женщин.] Кроме гемоглобина эритроциты содержат растворенные неорганические ионы (преимущественно К<sup>+</sup>) и различные ферменты. Две вогнутые стороны обеспечивают эритроциту оптимальную площадь поверхности, через которую может происходить обмен газами: диоксидом углерода и кислородом. Таким образом, форма клеток во многом определяет эффективность протекания физиологических процессов. У человека площадь поверхностей, через которые совершается газообмен, составляет в среднем 3820 м<sup>2</sup>, что в 2000 раз превышает поверхность тела.

Срок жизни зрелого эритроцита в периферической крови - в среднем 120 дней. Однако при некоторых аномалиях самих этих клеток, целом ряде болезней или под воздействием определенных лекарственных препаратов время жизни эритроцитов может сократиться.

Большая часть эритроцитов разрушается в печени и селезенке; при этом гемоглобин высвобождается и распадается на составляющие его гем и глобин. Дальнейшая судьба глобина не прослеживалась; что же касается гема, то из него высвобождаются (и возвращаются в костный мозг) ионы железа. Утрачивая железо, гем превращается в билирубин – красно-коричневый желчный пигмент. После незначительных модификаций, происходящих в печени, билирубин в составе желчи выводится через желчный пузырь в пищеварительный тракт. По содержанию в кале конечного продукта его превращений можно рассчитать скорость разрушения эритроцитов. В среднем во взрослом организме ежедневно разрушается и вновь образуется 200 млрд. эритроцитов, что составляет примерно 0,8% общего их числа (25 трлн.).

### **1.2.4 Гемоглобин.**

Основная функция эритроцита - транспорт кислорода из легких к тканям организма. Ключевую роль в этом процессе играет гемоглобин - органический пигмент красного цвета, состоящий из гема (соединения порфирина с железом) и белка глобина. Гемоглобин отличается высоким сродством к кислороду, за счет чего кровь способна переносить гораздо больше кислорода, чем обычный водный раствор. Степень связывания кислорода с гемоглобином зависит прежде всего от концентрации кислорода, растворенного в плазме. В



легких, где кислорода много, он диффундирует из легочных альвеол через стенки кровеносных сосудов и водную среду плазмы и попадает в эритроциты; там он связывается с гемоглобином - образуется оксигемоглобин. В тканях, где концентрация кислорода невелика, молекулы кислорода отделяются от гемоглобина и проникают в ткани за счет диффузии. Недостаточность эритроцитов или гемоглобина приводит к снижению транспорта кислорода и тем самым к нарушению биологических процессов в тканях. [1]

### **1.2.5 Лейкоциты.**

Белые клетки периферической крови, делят на два класса в зависимости от наличия или отсутствия в их цитоплазме особых гранул. Клетки, не содержащие гранул (агранулоциты), – это лимфоциты и моноциты; их ядра имеют преимущественно правильную круглую форму. Клетки со специфическими гранулами (гранулоциты) характеризуются, как правило, наличием ядер неправильной формы со множеством долей и потому называются полиморфноядерными лейкоцитами. Их разделяют на три разновидности: нейтрофилы, базофилы и эозинофилы. Они отличаются друг от друга по картине окрашивания гранул различными красителями.

У здорового человека в 1 мм<sup>3</sup> крови содержится от 4000 до 10 000 лейкоцитов (в среднем около 6000), что составляет 0,5 - 1% объема крови. Соотношение отдельных видов клеток в составе лейкоцитов может значительно варьировать у разных людей и даже у одного и того же человека в разное время. Типичные значения приведены в табл. 2. ( приложение 1) Полиморфноядерные лейкоциты (нейтрофилы, эозинофилы и базофилы) образуются в костном мозге из клеток-предшественников, начало которым дают стволовые клетки, вероятно, те же самые, что дают и предшественников эритроцитов. По мере созревания ядра в клетках появляются гранулы, типичные для каждого вида клеток. В кровотоке эти клетки перемещаются вдоль стенок капилляров в первую очередь за счет амебовидных движений. Нейтрофилы способны покидать внутреннее пространство сосуда и скапливаться в месте инфекции. Время жизни гранулоцитов, по-видимому, ок. 10 дней, после чего они разрушаются в селезенке. Диаметр нейтрофилов – 12 - 14 мкм. Большинство красителей окрашивает их ядро в фиолетовый цвет; ядро нейтрофилов периферической крови может иметь от одной до пяти долей. Цитоплазма окрашивается в розоватый цвет; под микроскопом в ней можно различить множество интенсивно-розовых гранул. У женщин примерно 1% нейтрофилов несет половой хроматин (образованный одной из двух X-хромосом) – тельце в форме барабанной палочки, прикрепленное к одной из ядерных долей. Эти т.н. тельца Барра позволяют определять пол при исследовании образцов крови.

Эозинофилы по своим размерам сходны с нейтрофилами. Их ядро редко имеет больше трех долей, а цитоплазма содержит множество крупных гранул, которые четко окрашиваются в ярко-красный цвет красителем эозином.

В отличие от эозинофилов у базофилов цитоплазматические гранулы окрашиваются основными красителями в синий цвет.

Моноциты. Диаметр этих незернистых лейкоцитов составляет 15 - 20 мкм. Ядро овальное или бобовидное, и лишь у небольшой части клеток оно поделено на крупные доли, которые перекрывают друг друга. Цитоплазма при окраске голубовато-серая, содержит незначительное число включений, окрашивающихся красителем азуром в сине-фиолетовый цвет. Моноциты образуются как в костном мозге, так и в селезенке и в лимфатических узлах. Их основная функция – фагоцитоз.

### **1.2.6 Лимфоциты.**

Это небольшие одноядерные клетки. Большинство лимфоцитов периферической крови имеет диаметр меньше 10 мкм, но иногда встречаются лимфоциты и большего

диаметра (16 мкм). Ядра клеток плотные и круглые, цитоплазма голубоватого цвета, с очень редкими гранулами. Несмотря на то, что лимфоциты выглядят морфологически однородно, они отчетливо различаются по своим функциям и свойствам клеточной мембраны. Их делят на три большие категории: В-клетки, Т-клетки и 0-клетки (нуль-клетки, или ни В, ни Т).

В-лимфоциты созревают у человека в костном мозге, после чего мигрируют в лимфоидные органы. Они служат предшественниками клеток, образующих антитела, т.н. плазматических. Для того чтобы В-клетки трансформировались в плазматические, необходимо присутствие Т-клеток. Созревание Т-клеток начинается в костном мозге, где образуются протиимоциты, которые затем мигрируют в тимус (вилочковую железу) - орган, расположенный в грудной клетке за грудиной. Там они дифференцируются в Т-лимфоциты - весьма неоднородную популяцию клеток иммунной системы, выполняющих различные функции. Так, они синтезируют факторы активации макрофагов, факторы роста В-клеток и интерфероны. Есть среди Т-клеток индукторные (хелперные) клетки, которые стимулируют образование В-клетками антител. Есть и клетки-супрессоры, которые подавляют функции В-клеток и синтезируют фактор роста Т-клеток - интерлейкин-2 (один из лимфокинов). 0-клетки отличаются от В- и Т-клеток тем, что у них нет поверхностных антигенов. Некоторые из них служат «естественными киллерами», т.е. убивают раковые клетки и клетки, зараженные вирусом. Однако в целом роль 0-клеток не ясна.

#### **1.2.7 Тромбоциты.**

Тромбоциты представляют собой бесцветные безъядерные тельца сферической, овальной или палочкообразной формы диаметром 2-4 мкм. В норме содержание тромбоцитов в периферической крови составляет 200000-400000 на 1 мм<sup>3</sup>. Продолжительность их жизни - 8-10 дней. Стандартными красителями (азур-эозин) они окрашиваются в однородный бледно-розовый цвет. С помощью электронной микроскопии показано, что по структуре цитоплазмы тромбоциты сходны с обычными клетками; однако по сути они являются не клетками, а фрагментами цитоплазмы очень крупных клеток (мегакариоцитов), присутствующих в костном мозге. Мегакариоциты происходят из потомков тех же стволовых клеток, которые дают начало эритроцитам и лейкоцитам. Тромбоциты играют ключевую роль в свертывании крови. Повреждения костного мозга под действием лекарств, ионизирующего излучения или при раковых заболеваниях могут приводить к значительному снижению содержания тромбоцитов в крови, что служит причиной спонтанных гематом и кровотечений. [3,11]

## **Практическая часть.**

### **Техника безопасности при заборе анализа крови и использовании нанооборудования.**

Необходимые условия для забора крови:

1. Стерильная одноразовая игла должна быть вынута из герметичной упаковки непосредственно перед взятием крови.
2. Место предполагаемого прокола должно быть тёплым.
3. Кожу в предполагаемом месте прокола обрабатывают 70%-ным этиловым спиртом или антисептическим раствором, дают высохнуть, после чего осуществляют манипуляцию.
4. После окончания процедуры место прокола протирают спиртом или раствором.
5. Ватный тампон надо подержать несколько минут до полной остановки выделения крови.

Техника безопасности при исследовании крови под оптическим микроскопом:

1. Вымыть и обезжирить предметные и покровные стёкла.
2. Моментальным движением другого предметного стекла размазать жидкость тонким слоем.
3. Высушить препарат на воздухе до исчезновения блеска и зафиксировать на предметном столике, предварительно положив сверху покровное стекло.

Техника безопасности при работе с оптическим микроскопом:

1. Перед включением вилки сетевого кабеля микроскопа в сеть необходимо убедиться, что блок питания лампы, расположенный в основании микроскопа соответствует напряжению сети 220В, частотой 50--60 Гц.
2. Установить предметное стекло в основание микроскопа, на него положить изучаемый объект.
3. Выбрать нужное увеличение объектива.
4. Выбрать подходящее расстояние между объективом и предметным стеклом.
5. Добиться более точного изображения, с помощью вращения кольца.

Техника безопасности при работе со сканирующим зондовым микроскопом (NanoEducator СЗМ):

1. При работе с устройством для травления игл, нужно соблюдать правила безопасности работы с химическими реактивами.
2. Нужно быть осторожным при работе с зондом! Нужно соблюдать правила безопасности работы с колющими предметами.
3. Соблюдайте правила безопасности при работе с электроприборами. Перед началом работы с прибором обеспечьте его заземление. Перед присоединением или отсоединением разъёмов, выключите прибор. Отсоединение или присоединение разъёмов во время работы может привести к повреждению электронной схемы и выхода прибора из строя.
4. Нельзя разбирать самостоятельно никакие части прибора. Разбирать изделие разрешено только специалистам, сертифицированным компанией «НТ-МДТ».
5. Оберегайте прибор от сильных механических воздействий. Нужно помнить, что толщина стенок сканера составляет всего 0,5 мм. Оберегайте прибор от воздействия предельных температур, попадания жидкости.

**Практическая часть включает четыре экспериментальные работы:**

1. Рассмотрение состава крови;
2. Измерение размеров эритроцитов;
3. Наблюдение за изменением формы эритроцитов в течение времени после забора крови.

1 эксперимент:

### **Экспериментальная работа №1**

**Тема:** Рассмотрение состава крови.

**Цель работы:** Рассмотреть состав крови под оптическим микроскопом.

**Приборы и оборудование:** Предметное стекло, покровное стекло, оптический микроскоп, образец крови, стерилизованная игла, вата, средство для дезинфекции.

#### **Ход работы:**

1. Для исследования вымыли и обезжирили предметные стекла, на которые мы поместили каплю крови. Моментальным движением другого предметного стекла размазали жидкость тонким слоем. Высушили препарат на воздухе до исчезновения блеска и зафиксировали на предметном столике, предварительно положив сверху покровное стекло.

Далее посмотрели на кровь под микроскопом (приложение 2, фото 1), под большим увеличением и увидели, что она состоит из жидкой части плазмы и взвешенных в ней форменных элементов: эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. ( Приложение 3, фото 1)

3. Особое внимание мы обратили на эритроциты - безъядерная клетка, состоящая из полупроницаемой белково-липоидной оболочки и губчатого вещества, в ячейках которого содержится гемоглобин. Форма эритроцитов — двояковогнутый диск. Они переносят молекулы белка гемоглобина, который и придает эритроцитам красный оттенок. С помощью белка эритроциты обогащают каждую клетку организма человека кислородом и удаляют углекислый газ.

4. Цвет эритроцитов под микроскопом нами был выявлен - розовый. Так как интенсивность окраски зависит от содержания гемоглобина и от связи гемоглобина с газами.

**Вывод:** В ходе работы, мы рассмотрели состав крови под микроскопом и увидели составляющие части - это эритроциты, лейкоциты. Выявили цвет эритроцитов – розовый.

2 эксперимент:

### Лабораторная работа №1

**Тема:** Измерение размеров эритроцитов.

**Цель работы:** Измерить эритроциты с помощью сканирующего зондового микроскопа.

**Приборы и оборудование:** Сканирующий зондовый микроскоп (NanoEducator СЗМ), вата, средство для дезинфекции, стерилизованная игла.

#### Ход работы:

Для измерения эритроцитов нам понадобился сканирующий зондовый микроскоп - это настольный прибор с компьютерным управлением. В режиме АСМ названные так, поскольку с их помощью регистрировались силы межатомного взаимодействия, так называемой силы ближнего поля. (приложение 2, фото 2)

Острая игла на пьезотрубке скользит вдоль поверхности и отклонение при этом измеряется компьютером и собирается в рельефный рисунок поверхности на экране.

Просканировав поверхность крови, мы выделили рельефные элементы похожие на форму эритроцитов и определили их размеры. ( Приложение 3, фото 2.1, 2.2)

#### В ходе измерений было выявлено:

№ опыта	Диаметр эритроцитов, мкм	Толщина эритроцитов, мкм	Погрешность диаметра, мкм	Погрешность Толщины, мкм
1	6.79	2	1,39	0,03
2	4.14	1.94	1,26	0,03
3	5.37	1.98	0,03	0,01
Хср	5,4	1,97	0,9	0,02

$$X_{cp} = \frac{x_1 + x_2 + x_3}{n} \quad (\text{средний диаметр и толщина эритроцитов):}$$

$$X_{cp} = \frac{6,79 + 4,14 + 5,37}{3} = 5,4 \text{ мкм}$$

$$X_{cp} = \frac{2 + 1,94 + 1,98}{3} = 1,97 \text{ мкм}$$

$$\Delta X_i = |\tilde{O}_{\tilde{n}\tilde{d}} - \tilde{O}_i| \quad (\text{погрешность диаметра и толщины эритроцитов):}$$

$$\Delta X_i = |5,4 - 6,79| = |-1,39| = 1,39 \text{ мкм}$$

$$\Delta X_i = |5,4 - 4,14| = |1,26| = 1,26 \text{ мкм}$$

$$\Delta X_i = |5,4 - 5,37| = |0,03| = 0,03 \text{ мкм}$$

$$\Delta X_i = |1,97 - 2| = |-0,03| = 0,03 \text{ мкм}$$

$$\Delta X_i = |1,97 - 1,94| = |0,03| = 0,03 \text{ мкм}$$

$$\Delta X_i = |1,97 - 1,98| = |-0,01| = 0,01 \text{ мкм}$$

$$\Delta X_{\text{ср}} = \frac{\Delta \tilde{\delta}_1 + \Delta \tilde{\delta}_2 + \Delta \tilde{\delta}_3}{n} \text{ (средняя погрешность диаметра и толщины эритроцитов):}$$

$$\Delta X_{\text{ср}} = \frac{1,39 + 1,29 + 0,03}{3} = 0,9 \text{ мкм}$$

$$\Delta X_{\text{ср}} = \frac{0,03 + 0,03 + 0,01}{3} = 0,02 \text{ мкм}$$

Сравнивая полученные данные с научными результатами книг «Физиология человека и животных» под руководством Гальперина С.И. и Михайлова В.Г.»Тайны крови», где сказано, что диаметр эритроцита человека 7-8 мкм, а толщина - 2-2,5 мкм.

**Вывод:** В ходе измерений, с помощью сканирующего зондового микроскопа, мы измерили среднюю длину и толщину эритроцитов. Полученные результаты сравнили с научными данными и было выявлено, что погрешность в измерениях не велика с помощью формулы:

$$X_{\text{ср}} = \frac{\Delta \tilde{\delta}_1 + \Delta \tilde{\delta}_2 + \Delta \tilde{\delta}_3}{n}, X_d = (5,4 \pm 0,9) \text{ мкм}, X_T = (1,97 \pm 0,02) \text{ мкм}$$

результаты измерений совпадают с научными результатами.

3 эксперимент:

### **Лабораторная работа №2**

**Тема:** Наблюдение за изменением формы эритроцитов в течение времени после забора крови.

**Цель работы:** Пронаблюдать, как изменяется форма эритроцитов в течение времени после забора крови с помощью оптического микроскопа.

**Приборы и оборудование:** Вата, спирт, стерилизованная игла, сканирующий зондовый микроскоп (NanoEducator СЗМ), оптический микроскоп.

#### **Ход работы:**

1. Мы взяли анализ крови и поместили на предметное стекло оптического микроскопа, через 30 минут мы пронаблюдали изменение формы эритроцитов.
2. Из округлой формы с ровными краями, эритроциты начали деформироваться.
3. Изменили свой цвет из ярко - алого в бледно - розовый, т.к. произошла нехватка кислорода. (приложение 3, фото 3)
4. Далее эритроциты стали сцепляться в цепочки (приложение 3, фото 3), образовалась неоднородная масса (приложение 3, фото 4), поскольку их оболочки с прикрепленными антителами прилипают друг к другу.

**Вывод:** В ходе исследования, с помощью оптического микроскопа, в течение 30 минут мы пронаблюдали изменение формы эритроцитов из округлой в деформированную, изменение окраски из ярко - алой в бледно - розовый. Сцепление в цепочки и образование неоднородной массы.

## **Заключение**

Таким образом, в результате исследований мы наблюдали под оптическим микроскопом структуру крови и её изменения с течением времени, с помощью сканирующего зондового микроскопа измерили размеры и рельеф эритроцитов, полученные результаты сравнили с научными данными и была выявлена небольшая погрешность в измерениях, но результаты совпадают с научными результатами.

Новизной данной работы стали те методы, которые мы применили для исследования микроструктур. Для этого освоили технологию работы на оптическом микроскопе и сканирующем зондовом микроскопе.

В итоге проведённой работы, результатом стали лабораторные работы, которые могут использоваться в учебном курсе «Нанотехнологий для школьников»



## Список литературы

1. Аксельрод А.Ю. Кислород в нашей жизни. – М.: Знание, 1977.
2. Воробьев Р.И. Питание и здоровье /. - М. : Медицина, 1990. - С. 160 :
3. Воробьева А.И. Руководство по гематологии, под ред., тт. 1 - 2. М., 1985
4. Гальперин С.И. Физиология человека и животных: Учебное пособие для студентов -М: «Высшая школа», 1970.-656с.
5. Ильинича В.И. Физическая культура студента. под ред. Ильинича В.И. - М.: Гардарики, 2001. – С. 447
6. Михайлов В.Г. Тайны крови. – М.: Знание, 1982.
7. Руководство по медицине. Диагностика и терапия, т. 1. М., 1997
8. Симен Б. Река жизни. – М: Мир, 1965.
9. <http://meduniver.com/Medical/gistologia/49.html>
10. [http://www.fptl.ru/himija%20jhizni/kaplja\\_krovi.html](http://www.fptl.ru/himija%20jhizni/kaplja_krovi.html)
11. Анатомия человека Привес М.Г., Лысенков Н.К., С-Пб, издательство «Гиппократ», 1999г.; 704с.

## Тезаурус

**Альбумин** - это белок, растворителем которого является вода, процесс свертывания вызывается воздействием тепла. Плазма крови содержит сывороточные альбумины, и несут функцию сохранения объёмов крови. Данный белок вырабатывает печень; если печень не способна вырабатывать альбумины то это может стать признаком таких заболеваний, как цирроз.

**Агранулоцитоз** - состояние, при котором наблюдается значительное уменьшение содержания нейтрофильных гранулоцитов в крови в результате поражения костного мозга химическими веществами или вследствие побочного действия некоторых лекарственных препаратов.

**Адреналин** - катаболический гормон и влияющий практически на все виды обмена веществ. Под его влиянием происходит повышение содержания глюкозы в крови и усиление тканевого обмена.

**Алкалоз** - повышенное содержание щелочей в крови и других тканях организма.

**Антитела** - белки (иммуноглобулины) плазмы крови человека и теплокровных животных, образующиеся при попадании в организм различных антигенов и способные специфически связываться с этими антигенами. Защищают организм от инфекционных заболеваний: взаимодействуя с микроорганизмами, препятствуют их размножению или нейтрализуют выделяемые ими токсины.

**Ацидоз** - одна из форм нарушений кислотно-щелочного равновесия организма; характеризуется абсолютным или относительным избытком кислот, т.е. веществ, отдающих ионы водорода (протоны), по отношению к основаниям, присоединяющим их.

**Базофилы** - клетки, содержащие в протоплазме зернистые структуры, окрашиваемые основными красителями. Термином "Б." обозначают один из видов лейкоцитов крови.

**Билирубин** - желчный пигмент, образующийся из гемоглобина в результате распада эритроцитов в клетках ретикулоэндотелиальной системы печени и костного мозга; в нормальных условиях аккумулируется в печени и экскрецируется с желчью.

**Буферность** - называют способность раствора сохранять величину водородного показателя при добавлении щелочи или кислоты.

**Глобин** - белковая часть сложного белка гемоглобина.

**Глобулины** - класс глобулиновых белков плазмы крови, характеризующиеся специфической подвижностью при разделении методом электрофореза белков крови, а также название лекарственного препарата, содержащего противобактериальные и противовирусные антитела, применяющегося с лечебной и профилактической целями.

**Гормоны** - биологически активные сигнальные химические вещества, выделяемые эндокринными железами непосредственно в организме и оказывающие дистанционное сложное и многогранное воздействие на организм в целом либо на определённые органы и ткани-мишени. Гормоны служат гуморальными (переносимыми с кровью) регуляторами определенных процессов в определённых органах и системах.

**Гранулоциты** - или нейтрофилы, сегментоядерные нейтрофилы, нейтрофильные лейкоциты - подвида гранулоцитарных лейкоцитов, названный нейтрофилами за то, что при окраске по Романовскому они интенсивно окрашиваются как кислым красителем эозином, так и основными красителями, в отличие от эозинофилов, окрашиваемых только эозином, и от базофилов, окрашиваемых только основными красителями.

**Депонированная кровь** - органы-резервуары, в которых у высших животных и человека может храниться изолированно от общего кровотока около 50 % всей крови.

**Интерлейкин (Interleukin)** - это любое вещество из семейства белков, которые контролируют

протекание гемопоэза и иммунных реакций.

**Интерферон** - общее название, под которым в настоящее время объединяют ряд белков со сходными свойствами, выделяемые клетками организма в ответ на вторжение вируса.

**Костный мозг** - это составляющая часть трубчатых костей скелета, которая заполняет внутреннюю полость кости и осуществляет в организме функцию образования обновленных клеток крови. Костный мозг также является органом образующим иммунную защиту организма.

**Клетки-супрессоры** - регуляторные Т-лимфоциты, Т-регуляторные клетки, Т-супрессоры центральные регуляторы иммунного ответа. Основная их функция - контролировать силу и продолжительность иммунного ответа через регуляцию функции Т-эффекторных клеток (Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток).

**Коллоидно осмотическое (онкотическое) давление** - коллоидно-осмотическое давление, доля осмотического давления, создаваемая высокомолекулярными компонентами раствора. В плазме крови человека составляет лишь около 0,5 % осмотического давления (3-4 кн/м<sup>2</sup>, или 0,03-0,04 ат). Тем не менее онкотическое давление играет важнейшую роль в образовании межклеточной жидкости, первичной мочи и др.

**Лимфатические сосуды** - сосуды, по которым в организме происходит отток лимфы из тканей и органов в венозную систему; часть лимфатической системы.

**Лимфа** - жидкость, циркулирующая в лимфатической системе позвоночных животных и человека.

**Легочные альвеолы** - тонкостенные пузырьки, основа лёгких.

**Лимфоциты** - разновидность белых кровяных клеток (незернистых лейкоцитов) позвоночных животных и человека. Лимфоциты имеют шарообразную форму, овальное ядро, окруженное богатой рибосомами цитоплазмой.

**Лимфоидные органы** - комплекс лимфоцитов и макрофагов, располагающихся в клеточно-волокнутой ретикулярной строме; составляет функционирующую паренхиму лимфоидных органов. К лимфоидным органам, являющимся органами иммуногенеза, относят вилочковую железу, лимфатические узлы, селезенку, лимфоидные элементы костного мозга и скопления Л.т. в стенках желудочно-кишечного тракта, дыхательных и мочевыводящих путей.

**Метод электрофореза** - лечебное вещество наносится на прокладки электродов и под действием электрического поля проникает в организм через кожные покровы (в терапии, неврологии, травматологии и др.) или слизистые оболочки (в стоматологии, ЛОР, гинекологии и др.) и влияет на физиологические и патологические процессы непосредственно в месте введения. Электрический ток также оказывает нервно-рефлекторное и гуморальное действие.

**Моноциты** - одна из форм белых незернистых кровяных клеток - агранулоцитов. Образуются в костном мозге; обычно имеют бобовидное ядро и слабобазофильную цитоплазму. В крови человека моноциты составляют в норме 4-8% общего количества лейкоцитов; размеры 12-20 мкм.

**Макрофаги** - полибласты, клетки мезенхимальной природы в животном организме, способные к активному захвату и перевариванию бактерий, остатков погибших клеток и других чужеродных или токсичных для организма частиц.

**Мегакариоциты** - это гигантские клетки костного мозга. Они имеют крупное ядро. От них отшнуровываются тромбоциты, представляющие собой фрагменты цитоплазмы мегакариоцитов, окруженные мембраной.

**Нейтрофилы** - микрофаги, специальные лейкоциты, одна из форм белых клеток крови - лейкоцитов - у позвоночных животных и человека. Диаметр 9-12 мкм.

**Оксигемоглобин** - продукт обратимого присоединения кислорода к "восстановлен-

ному" гемоглобину (Hb); переносит O<sub>2</sub> от органов дыхания к тканям и определяет ярко-красный цвет артериальной крови.

**Осмотическое давление** - давление, термодинамический параметр, характеризующий стремление раствора к понижению концентрации при соприкосновении с чистым растворителем вследствие встречной диффузии молекул растворённого вещества и растворителя.

**Протимоциты** - поступают в корковый слой и по мере созревания перемещаются в мозговой слой. Срок развития тимоцитов в зрелые Т-клетки - 20 дней.

**Соединительная ткань** - ткань животного организма, развивающаяся из мезенхимы; выполняет опорную, питательную (трофическую) и защитную функции. Особенностью строения этой ткани является присутствие хорошо развитых межклеточных структур (волокон и основного вещества).

**Тимус (вилочковая железа)** - лимфоидный орган человека и многих видов животных, в котором происходит созревание, дифференцировка и иммунологическое «обучение» Т-клеток иммунной системы. У человека тимус состоит из двух долей, расположенных в верхней части грудной клетки, сразу за грудиной.

**Ткань** - системы клеток, сходных по происхождению, строению и функциям. В состав ткани входят также межклеточные вещества и структуры - продукты клеточной жизнедеятельности.

**Факторы коагуляции** - разрушение дисперсных систем под действием внешних факторов, приводящее к агрегации мицелл.

**Фибриноген** - растворимый белок плазмы крови, относящийся к группе глобулинов; фактор I свёртывания крови, способный под действием фермента тромбина превращаться в фибрин.

**Фибрин** - высокомолекулярный белок, образующийся из фибриногена плазмы крови под действием фермента тромбина; имеет форму гладких или поперечноисчерченных волокон, ступки которых составляют основу тромба при свёртывании крови.

**Хелперные клетки** - существует две субпопуляции хелперных Т-клеток CD4<sup>+</sup> - TH1 и TH2, различающихся по набору (профилю) синтезируемых цитокинов, и от этого профиля зависит, какой из двух основных типов иммунного ответа будет реализован.

**Эндотелий** - специализированные клетки животных и человека, выстилающие внутреннюю поверхность кровеносных и лимфатических сосудов, а также полостей сердца.

**Эозинофилы** - зернистые лейкоциты, окрашивающиеся кислыми красителями, в том числе эозином, в красный цвет. Эозинофилы участвуют в аллергических реакциях организма.

## Приложение 1.

Т а б л и ц а 1 - Компоненты плазмы (в миллиграммах на 100 миллилитров).

Натрий	310–340
Калий	14–20
Кальций	9–11
Фосфор	3–4,5
Хлорид-ионы	350–375
Глюкоза	60–100
Мочевина	10–20
Мочевая кислота	3–6
Холестерин	150–280
Белки плазмы	6000–8000
Альбумин	3500–4500
Глобулин	1500–3000
Фибриноген	200–600
Диоксид углерода (объем в миллилитрах, с поправкой на температуру и давление, в расчете на 100 миллилитров плазмы)	55–65

Т а б л и ц а 2 - Содержание лейкоцитов в крови.

Тип клетки	Число клеток в 1 мм <sup>3</sup> крови	Соотношение в %
Полиморфноядерные клетки		
Нейтрофилы	2500–7500	50–70
Эозинофилы	50–500	1–5
Базофилы	20–100	0–1
Моноциты	100–800	2–10
Лимфоциты	1500–4000	20–45

## Приложение 2. Приборы.



Фото 1. Оптический микроскоп



Фото 2. Сканирующий зондовый микроскоп NanoEducator СЗМ

### Приложение 3. Фотографии.

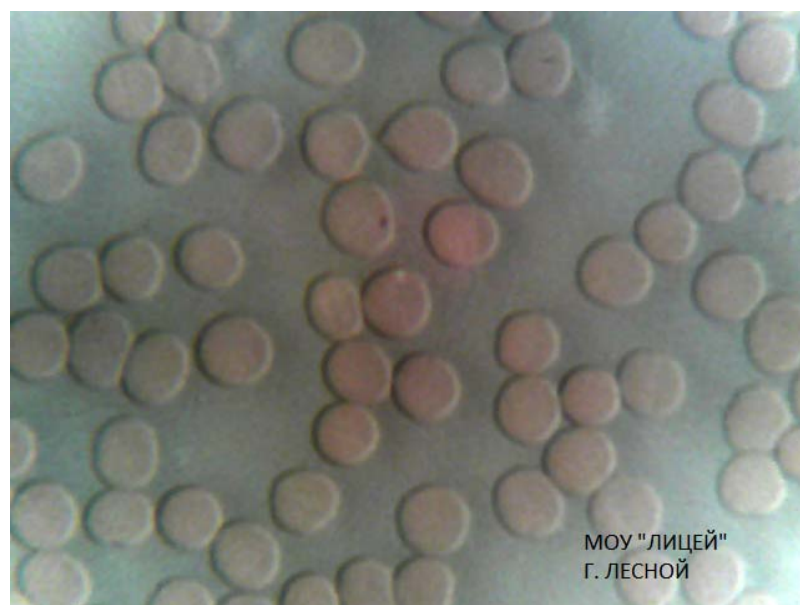
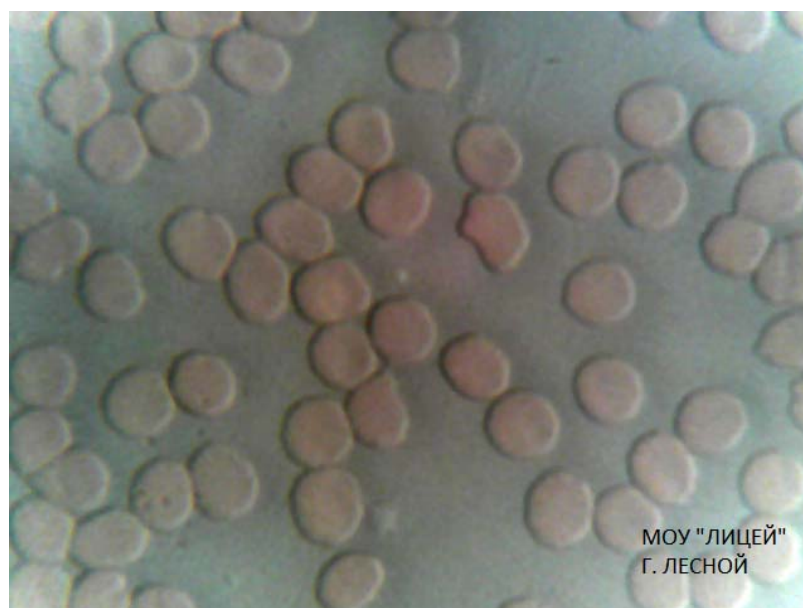
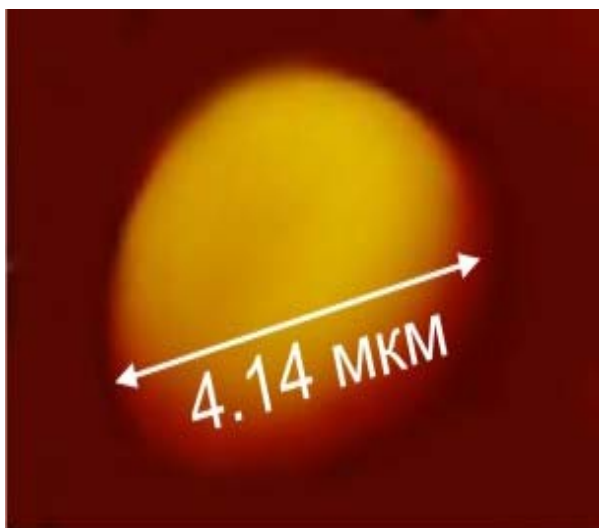
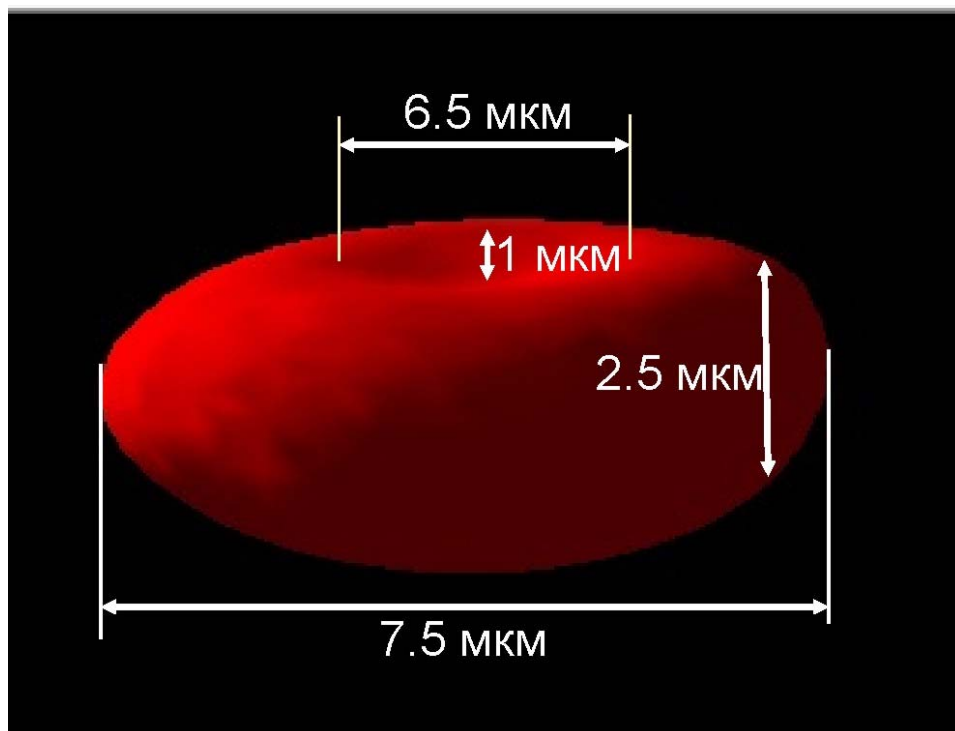
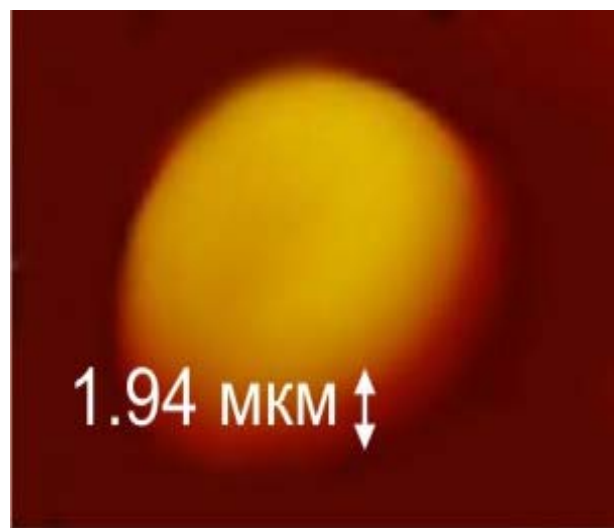


Фото 1. Кровь под микроскопом



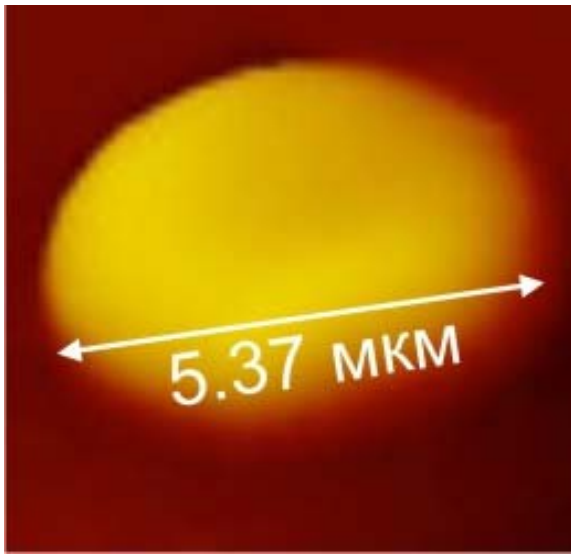
Длина эритроцита



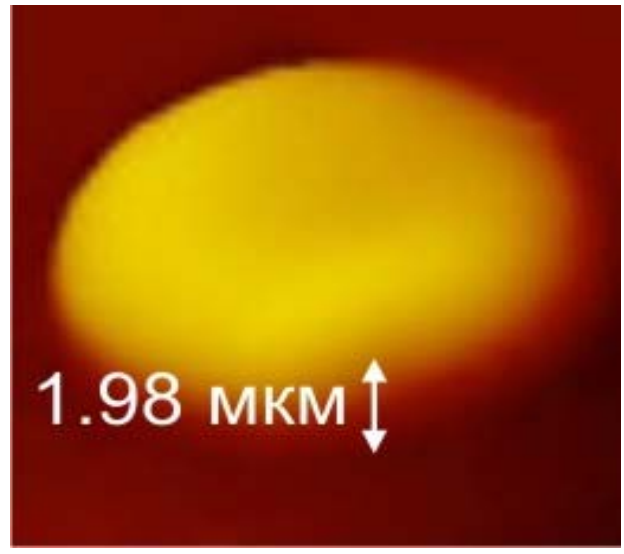
Толщина эритроцита

Фото 2.1. Измерение эритроцита

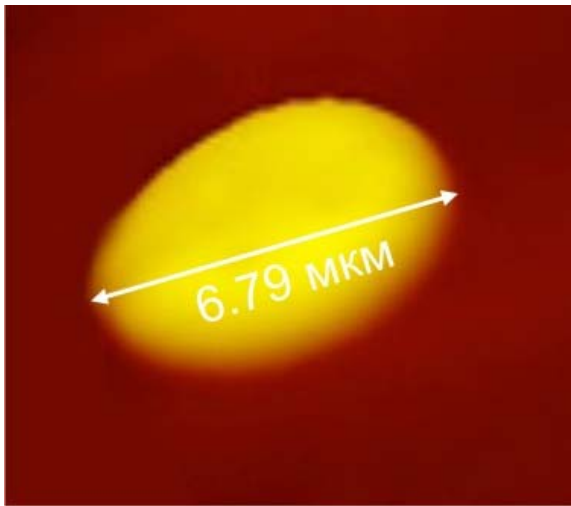




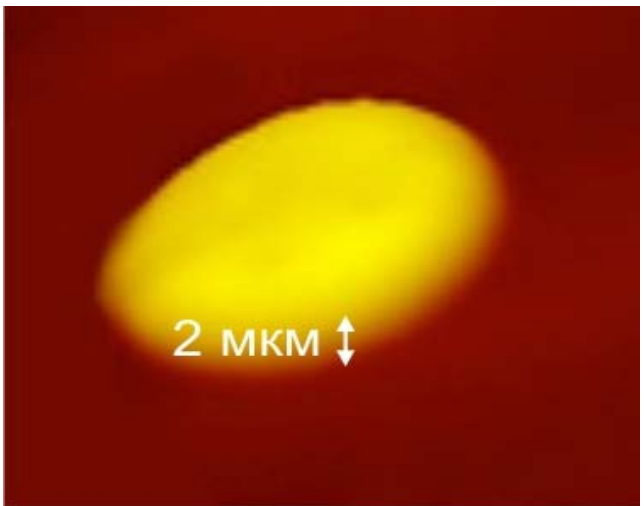
Длина эритроцита



Ширина эритроцита



Длина эритроцита



Ширина эритроцита

Фото 2.2. Измерение эритроцита

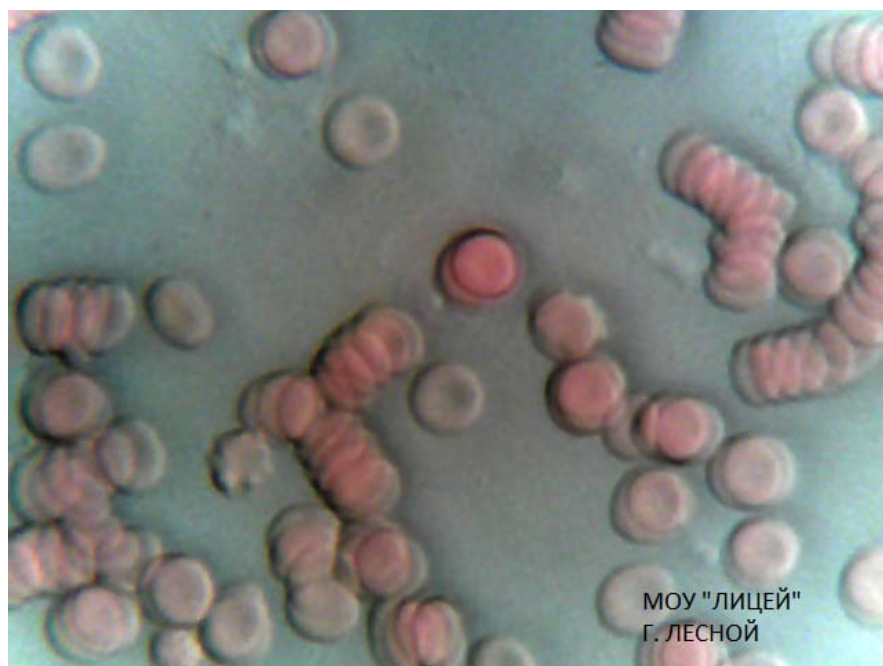


Фото 3. Сцепление эритроцитов в цепочки

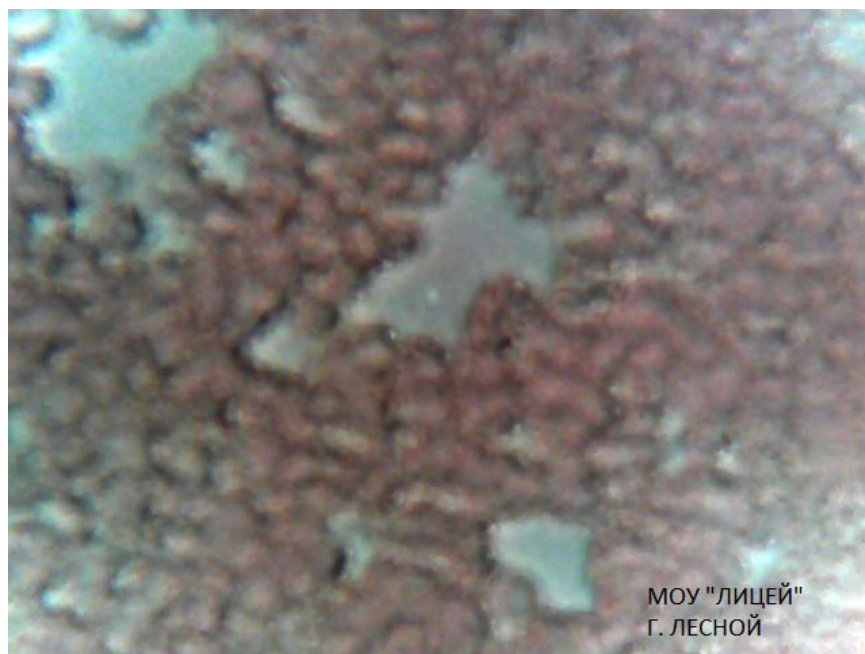


Фото 4. Превращение эритроцитов в неоднородную массу

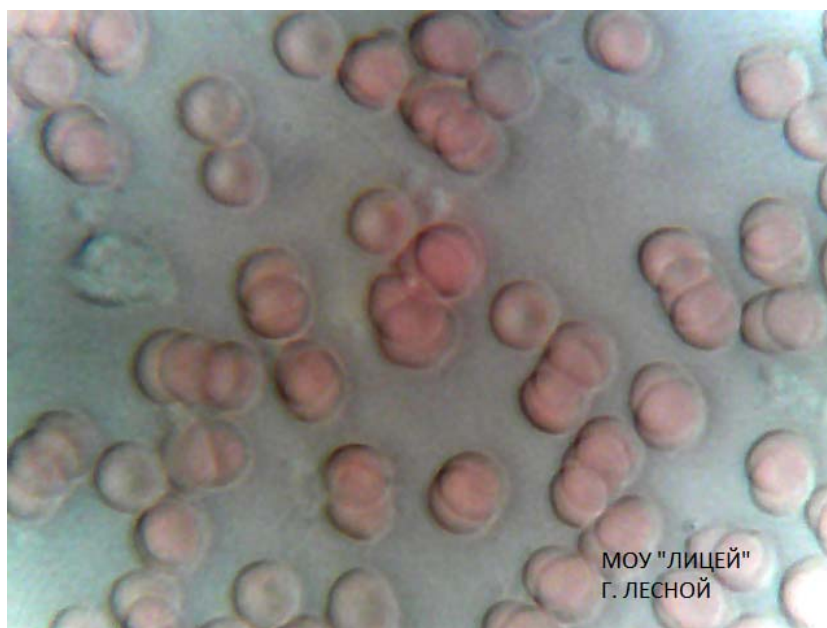


Фото 5. Кровь под микроскопом

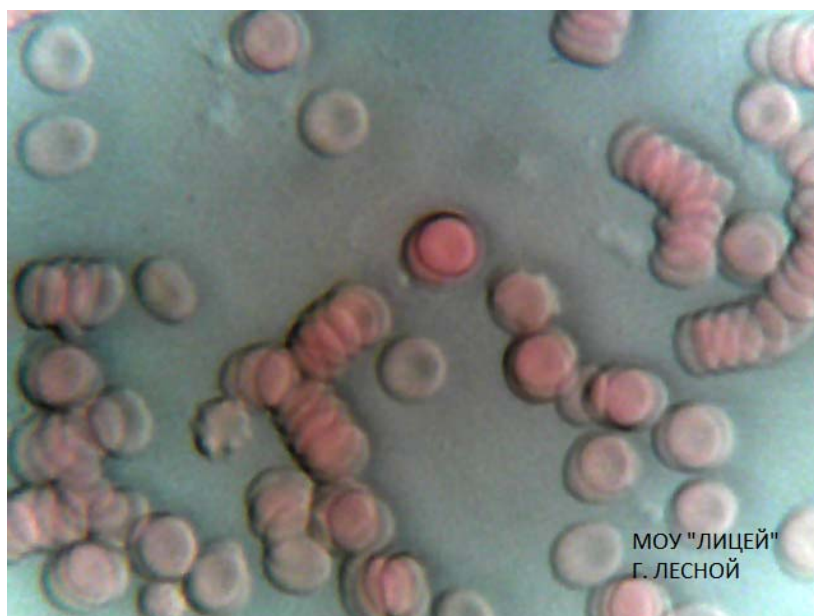


Фото 6. Кровь под микроскопом сцепление эритроцитов в цепочки

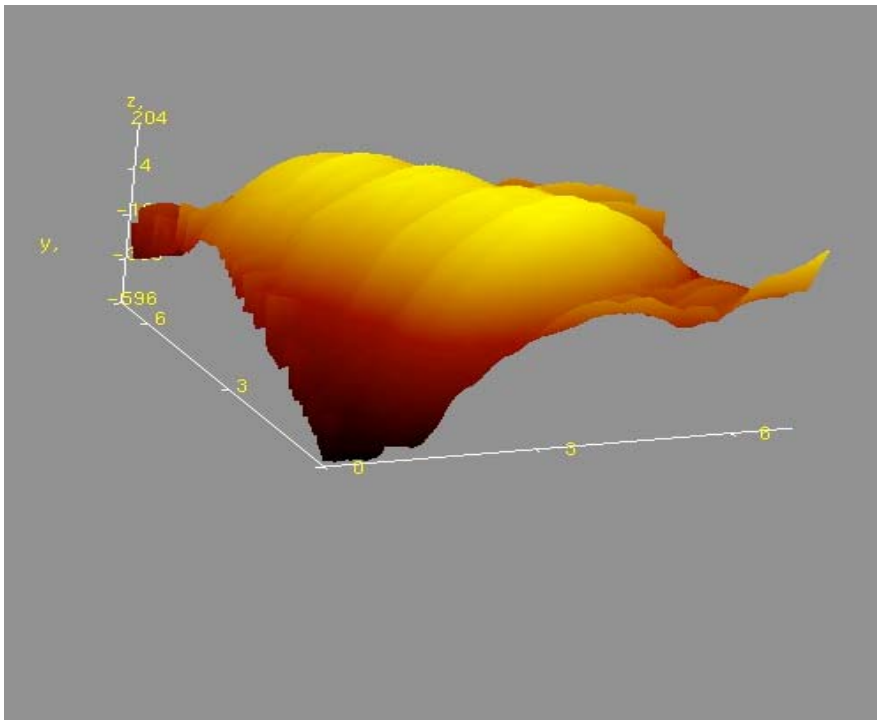
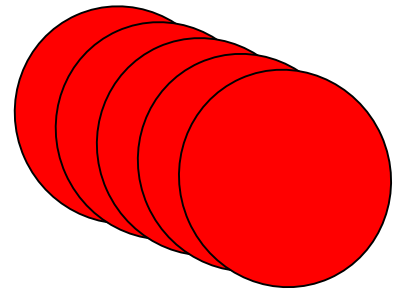
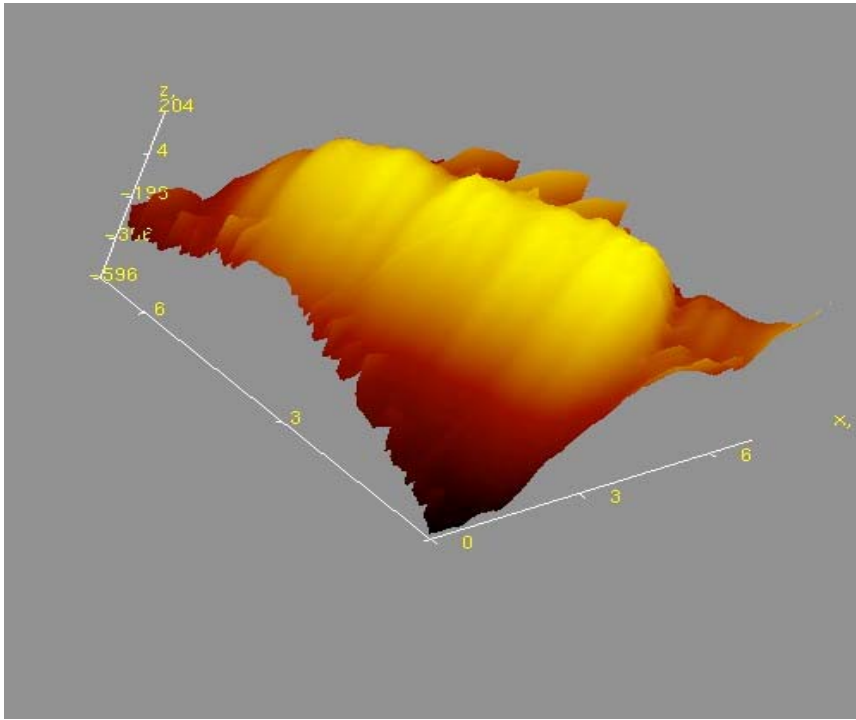


Фото 7. Просканированная кровь (цепочка)

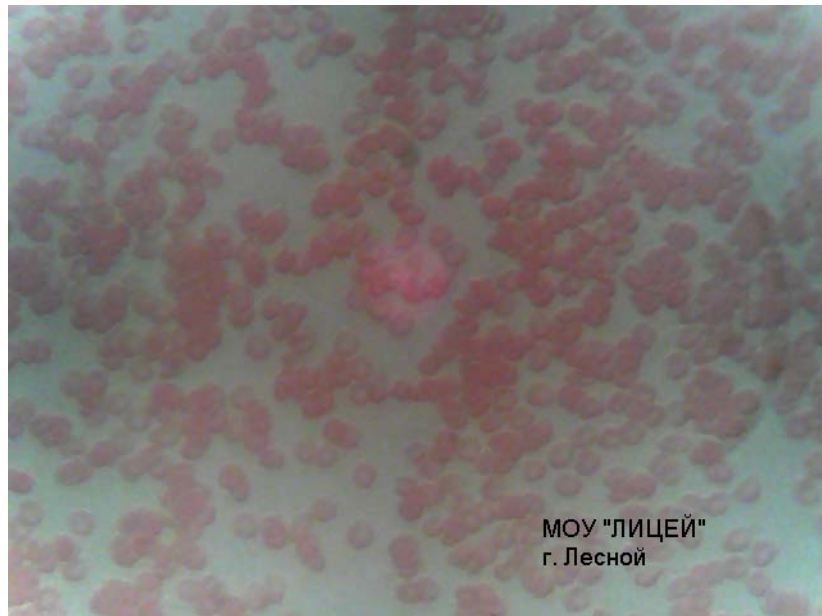
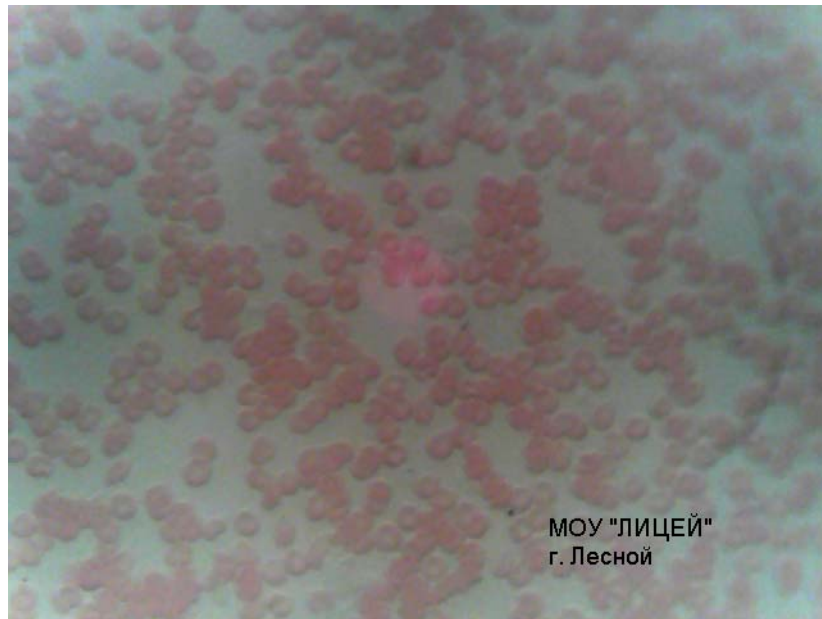


Фото 8. Кровь под микроскопом

