



## ИССЛЕДОВАНИЕ КРОВИ С ПОМОЩЬЮ НАНОСТРУКТУРНЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

**Т.В. ПАВЛОВА<sup>1</sup>, К.И. ПРОЩАЕВ<sup>1</sup>,  
С.А. СУМИН<sup>2</sup>, В.А. ПЕТРУХИН<sup>3</sup>,  
В.В. БАШУК<sup>1</sup>, И.С. СЫРЦЕВА<sup>4</sup>,  
А.В. СЕЛИВАНОВА<sup>4</sup>, М.А. ЧАПЛЫГИНА<sup>1</sup>**

<sup>1)</sup> *Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет*

<sup>2)</sup> *Курский государственный  
медицинский университет*

<sup>3)</sup> *Московский областной научно-  
исследовательский институт  
акушерства и гинекологии*

<sup>4)</sup> *Перинатальный центр  
Белгородской областной клинической  
больницы Святителя Иоасафа*

*e-mail: pavlova@bsu.edu.ru*

Разработаны новые методы, позволяющие проводить диагностику заболеваний (сердечно-сосудистой системы, онкопатологии, эндокринопатий, патологии материнства и детства, гериатрии) на различных этапах развития. Это делает возможным характеризовать топографические особенности форменных элементов крови, а также их макро- и микроэлементный состав. Данные исследования позволяют проводить коррекцию лечения.

Ключевые слова: эритроциты, сканирующая микроскопия, наноструктура.

**Введение.** Обширные диагностические тесты не всегда в полной мере могут дать ответы на поставленные вопросы, так как часто являются: патологически влияющими на состояние организма, неуниверсальными, не создающими общую картину процесса, недоступными для морфологических исследований, длительными по выполнению [1-9].

Нами разработаны новые методы, позволяющие проводить диагностику на различных этапах развития заболеваний сердечно-сосудистой системы (гипертоническая болезнь, инфаркт миокарда), онкопатологии, эндокринопатий (сахарный диабет, патология щитовидной железы), патологии материнства и детства, старения.

**Материалы и методы.** На данном этапе обследовано 10 пациентов пожилого возраста (от 60 до 69 лет, средний возраст 64,8±2,4 года, мужчин – 6 человек, женщин – 4 человека) с гипертонической болезнью. Помимо этого, был проведен анализ у 10 беременных женщин с гестозом и 10 с гипертонической болезнью, осложненной гестозом. 10 человек составили контрольную группу.

Для исследования методом световой микроскопии были изготовлены стандартные мазки крови, которые подвергались исследованию в световом микроскопе «Topic-T Ceti» при помощи цветной одноматричной видеокамеры «Ваumer-1». Для растровой электронной микроскопии изучаемые эритроциты промывали при 37°C в 2-3 пробах свежеприготовленного изотонического раствора натрия хлорида.

Пробы просматривали в растровом микроскопе «FEI Quanta 200 3D», а также «FEI Quanta 600 FEG». Элементный анализ был сделан с использованием детектора для регистрации спектров характеристического рентгеновского излучения фирмы EPIX. Детекторы интегрированы с растровым электронным микроскопом «Quanta 600 FEG». Микроэлементный анализ основан на возникновении непрерывного флуоресцентного излучения при бомбардировке исследуемых образцов пучком первичных рентгеновских лучей. Рентгеноспектральный анализ может быть использован для количественного определения элементов в материалах сложного химического состава – в металлах и сплавах, минералах, стекле, керамике, цементах, пластмассах, абразивах, пыли и различных продуктах химических технологий. Важным методом рентгеноспектрального анализа является анализ микрообъемов вещества.

Основу микроанализатора составляет микрофокусная рентгеновская трубка, объединенная с оптическим металл-микроскопом. Проводилось изучение следующих макро- и микроэлементов: углерода, кислорода, фосфора, кальция, азота, натрия, магния, железа, алюминия и серы.

Специальная электронно-оптическая система формирует тонкий электронный зонд, который бомбардирует небольшую (примерно 1-2 мк) область исследуемого шлифа, помещенного на аноде, и возбуждает рентгеновские лучи, спектральный состав которых далее анализируется с помощью спектрографа с изогнутым кристаллом. Такой прибор позволяет проводить рентгеноспек-

тральный анализ шлифа «в точке» на несколько элементов или исследовать распределение одного из них вдоль выбранного направления. В созданных позднее растровых микроанализаторах электронный зонд обегает заданную площадь поверхности анализируемого образца и позволяет наблюдать на экране монитора увеличенную в десятки раз картину распределения химических элементов на поверхности шлифа. Существуют как вакуумные (для мягкой области спектра), так и невакуумные варианты таких приборов. Абсолютная чувствительность метода 10-13 – 10-15 граммов. Погрешность при элементном анализе составляет 0,2-0,25% (по концентрации).

Для изучения образцов при помощи сканирующей зондовой микроскопии выполнялся мазок на предметном стекле. После целевого просмотра проводились съемка и морфометрический анализ. Зондовая сканирующая микроскопия проведена на сканирующем зондовом микроскопе «Ntegra-Aura». Исследования выполнены в режимах постоянного или прерывистого контактов на приборе «Ntegra-Aura» (Компания НТ-МДТ, г. Зеленоград, Россия) с использованием коммерческих Si или SiN кантилеверов (NSG01, NT-MDT, Россия) в условиях атмосферы и низкого вакуума. В качестве подложек использовали слюду (мусковит) или высокоориентированный пиролиитический графит (пирографит) для исследования поверхности свежего скола. Обработку и построение АСМ-изображений проводили при помощи программного обеспечения «NOVA» (НТ-МДТ, Россия) и «ImageAnalysis» (НТ-МДТ, Россия).

**Результаты и их обсуждение.** С помощью растровой электронной микроскопии было показано изменение формы клеток при гипертензии различного генеза, изменение формы и размера клеток (рис. 1).

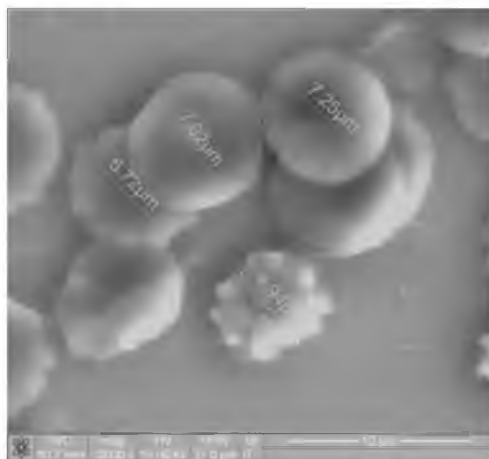


Рис. 1. Эритроциты при гипертонической болезни на фоне беременности. Неизмененные дискоциты, дискоциты с множественными выростами, клетки в виде туговялой ягоды, дискоциты с гребнем. РЭМ. Ув. 10000

Микроэлементный анализ показал достоверную разницу в содержании кислорода, хлора и серы (см. табл.).

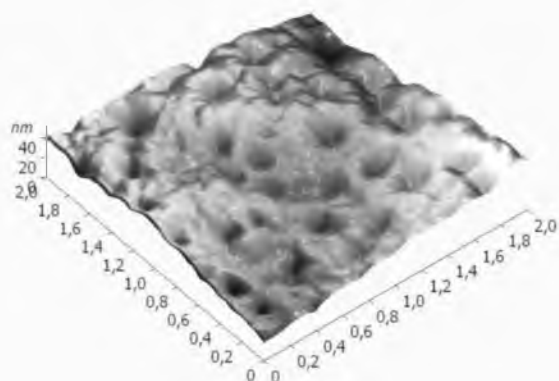
**Распределение макро- и микроэлементов в эритроцитах контрольной группы и при гипертонической болезни (%)**

Таблица

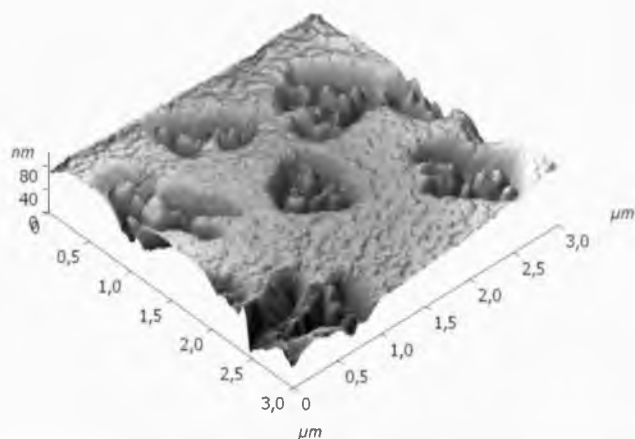
Макро- и микроэлементы, %	Контроль	Гипертоническая болезнь
C	57,52±2,31	58,26±1,56
N	15,42±1,01	17,87±1,12
O	19,07±0,55	17,78±1,61*
Na	3,92±0,02	3,21±0,10
S	0,29±0,01	0,61±0,01*
Cl	3,73±0,03	1,70±0,01*

Примечание. \* $p > 0,05$ .

При помощи зондовой микроскопии было показано, что наблюдалось отличие в форме и поверхности эритроцитов в контрольной группе и при гипертензии различного генеза (рис. 2, 3).



*Рис. 2.* Поверхность эритроцитов контрольной группы.  
Поры одинакового размера и формы на поверхности эритроцитов. Атомносиловая лаборатория



*Рис. 3.* Поверхность эритроцитов при гипертонической болезни.  
Изменение пор эритроцитов. Атомносиловая лаборатория

**Заключение.** Таким образом, показанные методы делают возможным характеризовать топографические особенности форменных элементов крови, а также их микроэлементного состава (макро- и микроэлементов). Данные исследования позволят проводить коррекцию и диагностику лечения на различных этапах.

### Литература

1. Павлова, Т.В. Маточно-плацентарная дисфункция при гипертонической болезни у беременных, осложненной гестозом / Т.В. Павлова, А.В. Селиванова // Успехи современного естествознания. – М., 2008. – № 10 – С. 33-40.
2. Селиванова, А.В. Особенности течения беременности и родов у женщин с артериальной гипертензией / А.В. Селиванова, Т.В. Павлова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2008. – № 6(46), вып. 5. – С. 64-66 (перечень ВАК).
3. Pavlova, T.V. Development of endothelial dysfunction in system mother-placenta-fetus at hypertensive disease in gravidae / T.V. Pavlova, A.V. Selivanova // European journal of natural history. – 2008. – № 4. – P. 52.
4. Нарушение маточно-плацентарного кровотока при гипертонической болезни у беременных / Т.В. Павлова, А.В. Селиванова, А.Н. Семькин, В.А. Петрухин // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2008. – Т. VII, № 4. – С. 1057-1060 (перечень ВАК РФ).
5. Морфологические особенности маточно-плацентарного кровотока при гестозе / Т.В. Павлова, А.В. Селиванова, А.Н. Семькин, В.А. Петрухин // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2009. – Т. 9, № 5. – С. 15-19 (перечень ВАК РФ).
6. Павлова, Т.В. Терапия тяжелых гестозов при недоношенной беременности / Т.В. Павлова, А.Н. Семькин, В.А. Петрухин // Общая реаниматология. – 2010. – Т. VI, № 5. – С. 29-32 (перечень ВАК РФ).



7. Павлова, Т.В. Влияние 6% ГЭК Стабизола на клинические особенности материнско-плодовых взаимоотношений при недоношенной беременности на фоне тяжелого гестоза / Т.В. Павлова, А.В. Нестеров, А.Н. Семькин, В.А. Петрухин // *Новости анестезиологии и реаниматологии*. – 2011. – № 3. – С. 64.

8. Павлова, Т.В. Роль Стабизола® ГЭК 6% в системе мать-плацента-плод при гестозе / Т.В. Павлова, А.Н. Семькин, В.А. Петрухин // *Методические рекомендации*. – М. : МедЭкспертПресс, 2011. – 18 с.

9. Павлова, Т.В. Влияние Стабизола® ГЭК 6% на стабилизацию маточно-плацентарного кровообращения при тяжелом гестозе / Т.В. Павлова, А.Н. Семькин, В.А. Петрухин // *Методические рекомендации*. – М. : МедЭкспертПресс, 2011. – 32 с.

## **BLOOD TESTS BY MEANS OF NANOSTRUCTURAL MORPHOLOGICAL METHODS**

**T.V. PAVLOVA<sup>1</sup>, K.I. PRASCHAYEU<sup>1</sup>,  
S.A. SUMIN<sup>2</sup>, V.A. PETRUHIN<sup>3</sup>,  
V.V. BASHUK<sup>1</sup>, I.S. SIRTSEVA<sup>4</sup>,  
A.V. SELIVANOVA<sup>4</sup>, M.A. CHAPLYGINA<sup>1</sup>**

<sup>1)</sup> *Belgorod National Research University*

<sup>2)</sup> *Kursk State Medical University*

<sup>3)</sup> *Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology*

<sup>4)</sup> *St. Ioasaf's Belgorod Regional Hospital*

*e-mail: pavlova@bsu.edu.ru*

New methods for carrying out the diagnostics of diseases (cardiovascular system, onkopathology, endokrinopathy, pathology of motherhood and the childhood, geriatrics) at various stages are developed. It makes possible to characterize the topographical features of formal blood elements, and also their macro- and microelement structure. These researches allow to carry out treatment correction.

Keywords: the erythrocytes, scanning microscopy, nanostructure.