

# Исследование эритроцитов крови человека

Ушаков Н.Р.

Биология

*б «А» класс, МОУ «Оболенская СОШ», п. Оболенск, Московской области*

*Научный руководитель: Арефьева А.И., МОУ «Оболенская СОШ», п. Оболенск,  
Московской области*

## **Введение.**

В данной работе представлено знакомство с клетками крови – эритроцитами, способами их подсчёта и обозначена их роль в организме человека.

## **Актуальность работы:**

Содержание необходимого количества эритроцитов в крови очень важно для мониторинга состояния здоровья человека. Подсчёт клеток крови можно произвести при помощи дорогостоящего анализирующего оборудования (роботизированных машин), а можно и «вручную» – при помощи камеры Горяева и микроскопа. Этот метод менее затратный, но более трудоёмкий по сравнению с автоматическим методом. Для исследования крови на роботах-анализаторах нужны дорогостоящие приборы и реактивы. При условиях недоступности по каким – либо причинам дорогостоящего оборудования, подсчёт эритроцитов в камерах Горяева производится по сей день и считается резервным методом подсчёта клеток.

**Цель работы:** изучить эритроциты крови человека.

## **Задачи исследования:**

1. Проанализировать качественные и количественные характеристики эритроцитов.
2. Изучить устройство камеры Горяева и освоить методику её использования.

3. Провести исследование крови.
4. Сделать выводы по результатам исследования.
5. Разработать памятку по подсчёту эритроцитов в камере Горяева и пособие по определению эритроцитов в крови человека с помощью камеры Горяева.

**Предмет исследования:** эритроциты крови человека.

**Объект исследования:** капля крови человека.

**Гипотеза:** эритроциты крови можно увидеть в микроскоп, посчитать их, и сделать это возможно без использования дорогостоящих гематологических роботов-анализаторов.

**Методы исследования:**

В данном исследовании применялись следующие методы:

- метод наблюдения;
- метод описания, фотографирования, счёта;
- аналитический метод (анализ, сравнение и обобщение полученной информации из различных источников);
- эмпирический метод (опыты).

**Продукт проекта:** Памятка по подсчёту эритроцитов в камере Горяева; пособие «Подсчёт эритроцитов при помощи камеры Горяева»

**Практическая значимость:** Данное пособие можно использовать на уроках биологии при изучении темы: "Кровь и остальные компоненты внутренней среды организма" в 8 классе, а также на внеурочной деятельности школьников среднего звена.

**Перспективы:** изучить химический состав крови человека.

Что такое эритроциты? Для детального изучения данной темы я обратился к различным научным источникам информации. Что представляют собой эритроциты? Данный термин произошел от 2-ух слов «erythos» и «kytos», что в переводе с греческого языка означает «красный» и «вместилище, клетка». Эритроциты представляют собой красные кровяные тельца крови человека,

позвоночных, а также некоторых беспозвоночных животных, на которые возложены важные и весьма разнообразные функции. Я выяснил, что эритроциты - это компонент крови. Кровь на 55 % состоит из плазмы (желтовато-белая жидкость, которая в свою очередь состоит в основном из воды, а также различных белков, солей, микроэлементов и витаминов) и на 45 % из клеток, которые называют кровяными тельцами или кровяными клетками [1,2]. Больше всего в крови человека содержится эритроцитов, которые также называют красными кровяными тельцами или красными клетками крови. Они составляют 99 % из всех клеток крови. Каждый вид клеток в крови можно посчитать.

### **История изучения эритроцитов.**

Первооткрывателем эритроцитов обычно считается Антони ван Левенгук. На самом деле он не был первым, кто наблюдал в крови «красные частицы», зато его наблюдения были более длительными и подробными, чем его предшественников – Мальпиги и Сваммердама. В настоящее время кровь анализируют автоматические машины-роботы (анализаторы) [3,4,6,7].

### **Устройство камеры Горяева.**

Лабораторная камера Горяева (Фото 1), названная в честь русского врача, профессора Казанского университета Горяева Н.К., является специальным монолитным предметным стеклом, предназначенным для подсчета количества клеток в заданном объеме жидкости. Сетка камеры представляет собой квадрат площадью 9 мм<sup>2</sup>, который разделен на 225 больших квадратов (15 – по вертикали, 15 – по горизонтали), имеющие различный рисунок: часть из них расчерчена только поперечными линиями, часть – только продольными, а 25 больших квадратов разделены на 16 малых квадратов. Кроме того, в 100 больших квадратах исчерченность отсутствует. Они собраны в группы по четыре, всего в сетке 25 групп пустых квадратов. Если условно поделить всю сетку на малые

квадраты, то их количество составит 3600. Сторона малого квадрата равна 1/20 мм, его площадь 1/400 мм<sup>2</sup> [5].

Фото 1. Камера Горяева.



### **Строение и образование эритроцитов.**

Зрелые эритроциты (нормоциты) представляют собой безъядерные клетки в форме двояковогнутого диска диаметром 7—8 мкм. Эритроциты образуются в красном костном мозге (Рисунок 3), откуда попадают в кровь в незрелом виде и достигают окончательной дифференцировки через 1—2 дня после выхода в кровотока. Отслужившие и повреждённые эритроциты фагоцитируются макрофагами селезёнки, печени и костного мозга. [2].

### **Функции и роль эритроцитов в организме человека.**

Газообменная («дыхательная») – перенос кислорода и углекислого газа, обеспечивается наличием в эритроцитах гемоглобина – железосодержащего кислород-связывающего пигмента. Транспортная – участвуют в транспорте аминокислот, гормонов, антител, лекарств и других веществ. Защитная – связывают токсины за счет присутствия на их поверхности специальных веществ белкового происхождения. Регуляция кроветворения - обеспечение железом процессов образования гемоглобина в красном костном мозге, участвуют в свёртывании крови. Железо выделяется при разрушении старых эритроцитов.

**Ферментативная:** являются носителями различных специфических белковых катализаторов. Принимают участие в водном, солевом обмене, регулируют кислотность крови. На поверхности эритроцитов находятся антигены — групповые признаки крови. [6,7]. Границы нормы эритроцитов различаются в зависимости от пола, возраста и других особенностей и варьирует в пределах  $(2,7-5,6) \times 10^{12}$  г/л.

### **Вывод по литературному обзору:**

Изучив строение, функции и роль эритроцитов, я понял, что строение эритроцитов идеально соответствует выполняемой ими функции переноса газов, благодаря мелким размерам, а значит, огромному количеству в крови, двояковогнутой форме, отсутствию в зрелых клетках ядер.

### **Степень изученности темы:**

Данная тема изучена довольно подробно, однако количественный метод изучения эритроцитов при помощи камеры Горяева на сегодняшний день используется крайне редко в силу его трудоёмкости и наличия более современных методов исследования. Тем не менее данный метод остаётся востребованным, так как далеко не в каждом медицинском учреждении имеются современные методы анализа клеток крови.

**Личный вклад автора:** мною проведено исследование и анализ качественных и количественных характеристик эритроцитов; изучено устройство камеры Горяева и освоена методика её использования; произведен подсчёт эритроцитов крови при помощи камеры Горяева и микроскопа; сделаны выводы по результатам исследования; разработана доступная школьникам памятка по подсчёту эритроцитов в камере Горяева и пособие по исследованию эритроцитов при помощи камеры Горяева для внутришкольного пользования, которое может использоваться обучающимися на уроках биологии и внеурочной деятельности.

### **Основная часть.**

*Проверка гипотезы количественным методом определения эритроцитов в крови при помощи камеры Горяева.*

На базе «Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии» мы осуществили микроскопию капли крови в камере Горяева. Произвели подсчёт эритроцитов при помощи формул. Сделали фотографии увиденного в микроскоп.

**Опыт №1. Подсчёт эритроцитов под микроскопом при помощи камеры Горяева.**

*1. Организационная часть.* Оснащение: Реактивы. 4мл 0,9 % раствор хлорида натрия. Специальное оборудование: 1. Счетная камера Горяева. 2. Микроскоп.

*2. Научно-исследовательская часть.*

***Подготовительные работы и забор крови.*** Поместили стекло камеры Горяева под объектив микроскопа и рассмотрели сетку камеры под большим и малым увеличением. Подсчет проводили под малым повышением микроскопа (объектив  $\times 8$ , окуляр  $\times 10$  либо  $\times 15$ ), конденсор должен быть опущен, а диафрагма закрыта.

***Подготовка камеры Горяева.*** Подготовили счетную камеру: обезжирили при помощи 70% спирта и протёрли насухо камеру с сеткой и покровное стекло, затем покровное стекло притёрли к камере до появления радужных колец (кольца Ньютона) - необходимо наложить так, чтобы оно покрыло обе боковые и среднюю пластинки. Так как боковые пластинки выше средней, между нею и покровным стеклом остается щель. Это сама камера, в которую заливают разведенную кровь. Налили 4 мл 0,9 % раствора натрия хлорида в рабочую пробирку для разбавления эритроцитов.

***Забор крови.*** Подготовка к анализу стандартная: забор крови производился утром натощак, последний приём пищи за 10 ч. Забор крови у моего папы (в

количестве 200мкл) в пипетку осуществлял медицинский работник. Далее он погрузил кончик пипетки в 0,9 % раствор натрия хлорида и разбавил кровь в 200 раз (4мл физиологического раствора хлорида натрия плюс 20 микролитров крови).

**Заполнение камеры.** Далее осторожно перемешали раствор крови в пробирке, вращая ее между ладонями в течение 2 мин (как показал медицинский работник), и каплю раствора поместили в камеру. Разведенную кровь нанесли на среднюю пластинку камеры пипеткой, помещая ее около края покровного стекла. Раствор зашёл под покровное стекло в камеру и заполнили её. Мы подождали 2 мин, пока перемещение жидкости в камере не закончится.

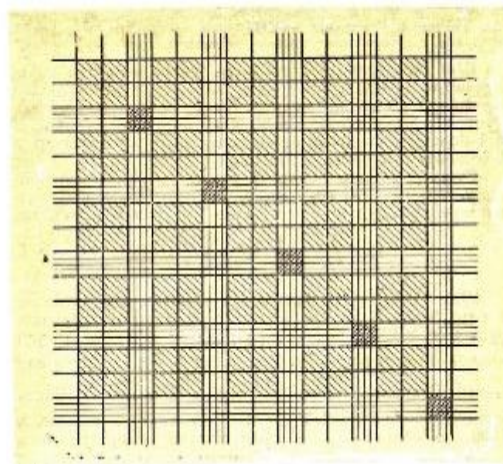
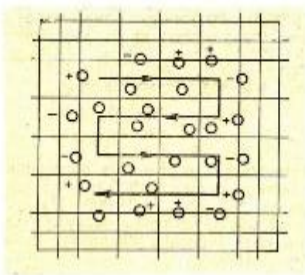
**Микроскопирование.** При малом увеличении микроскопа нашли сетку камеры. Перевели микроскоп на большое увеличение и начали подсчет эритроцитов. Нашли верхний левый край сетки. Счёт осуществляли в 5 больших квадратах, поделённых на 16 малых, т. е. в 80 малых квадратах. Считали эритроциты в квадратах, которые помещаются по диагонали поля зрения.

**Подсчёт эритроцитов.** Во время подсчета эритроцитов надо помнить правило Егорова: в маленьких квадратах считать те клетки, которые помещаются как внутри квадрата сетки, так и на его верхней и левой гранях. Это нужно для того, чтобы дважды не считать эритроциты, которые находятся на сторонах смежных квадратиков (Фото 2). По нашим подсчётам в 80-ти маленьких квадратах оказалось 470 эритроцитов. Подставляем это число в формулу, указанную в Памятке по использованию камеры Горяева и получаем  $X = 470 \cdot 4000 \cdot 200 / 80 \cdot 10^6$ ,  $X = 4,7 \cdot 10^{12}$  г/л. Таким образом мы определили, что количество эритроцитов в крови моего папы:  $4,7 \cdot 10^{12}$  г/л. Существует специальный протокол исследования, в котором врачи-лаборанты отображают результат расчёта.

**Памятка по подсчёту эритроцитов в камере Горяева.**

*Принцип метода:* подсчёт клеток под микроскопом в определённом количестве квадратов счётной сетки и перерасчёт на 1 мкл крови (или на 1 л по системе СИ), осуществляем исходя из значений объёма квадратов и разведения крови. В качестве разводящей жидкости для подсчёта эритроцитов используем 0,9%-й (изотонический, или физиологический) раствор хлорида натрия. В пробирку с 4 мл раствора хлористого натрия вносим 0,02 мл (20 мкл) крови, таким образом кровь разводится в 200 раз ( $4000/20 = 200$ ). Содержимое пробирки аккуратно, но тщательно перемешиваем и заполняем камеру Горяева. Через 2 минуты проводим микроскопирование при малом увеличении (объектив 8х, окуляр 10х), с приподнятым конденсором и закрытой диафрагмой. Эритроциты подсчитываем в 5 расположенных по диагонали сетки больших квадратах, которые разделены на малые, т. е. в 80 малых квадратах и далее производим расчёт по формуле:  $X = a \cdot 4000 \cdot 200 / 80 \cdot 10^6$ ; где  $X$  — количество эритроцитов в 1 мкл;  $a$  — количество эритроцитов в 80 маленьких квадратах; 80 - количество подсчитанных маленьких квадратов (5 (больших квадратов) \* 16 (маленьких квадратов) = 80 маленьких квадратов); 200 — степень разведения крови (1/200); 4000 - множитель, который приводит результат объема в 1 мкл крови, поскольку объем маленького квадратика составляет 1/4000 мм. Для определения количества эритроцитов в литре, полученную цифру умножают на  $10^6$ .

Фото 2. Подсчёт эритроцитов.



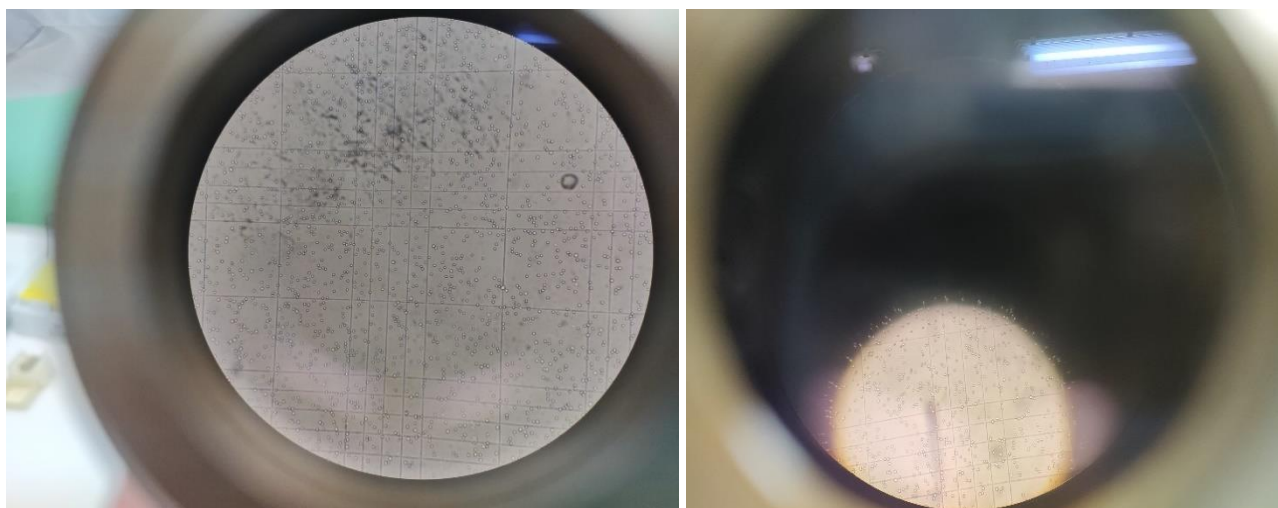


**Завершение работы.** После работы с камерой Горяева мы погрузили её в 70%-ый раствор этилового спирта на 30 минут, после чего промыли камеру дистиллированной водой и протёрли мягкой салфеткой. Камера должна храниться в сухом месте.

### **Результаты и обсуждение.**

**Результаты:** мы рассмотрели эритроциты под микроскопом в камере Горяева и произвели их подсчёт. На основании увиденного в микроскоп мы сделали фотографии при помощи камеры телефона (Фото 3, 4). По результатам, полученным при подсчёте, мы определили, что полученное количество эритроцитов является нормой для мужчин.

Фото 3,4. Эритроциты под микроскопом.



**Вывод по основной части:** в результате проведённого исследования мы проанализировали качественные и количественные характеристики эритроцитов; изучили устройство камеры Горяева и освоили методику её использования; провели исследование крови; сделали выводы по результатам исследования; разработали доступную школьникам памятку по работе с камерой Горяева и пособие «Подсчёт эритроцитов при помощи камеры Горяева» для внутришкольного пользования.

**Заключение:** наша гипотеза подтвердилась, эритроциты можно увидеть под микроскопом и посчитать их при помощи камеры Горяева и микроскопа без использования дорогостоящих роботов-анализаторов и реактивов.

**Дальнейшие перспективы исследования:** мы продолжим изучение химического состава крови, расширим знания в этой области и попытаемся изучить и посчитать другие форменные элементы крови.

### **Список использованных источников и литературы.**

1. Клиническая лабораторная диагностика: учебно-методическое пособие / Д.Ю. Соснин, В.В. Базарный, И.А. Булатова // – Пермь. – 2021. – 191 с. ISBN 978-5-398-02562-0
2. Пасечник, В.В., Биология: 8 класс: учебник для общеобразоват. учреждений под ред. В. В. Пасечника / В.В. Пасечник, А.А. Каменский, Г.Г. Швецов // Просвещение. – 2020. – С. 255. ISBN 978-5-09-018548-6.
3. Стуклов, Н.И.: учебник по гематологии / Н.И. Стуклов, Г.И. Козинец, Н.Г. Тюрина // — М.: Практическая медицина. – 2018. — 336 с. ISBN 978-5-98811-492-5
4. Наука и жизнь. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: *URL:https://www.nkj.ru/archive/articles/42664/ (дата обращения 16.12.2022).*
5. Форменные элементы крови. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: *URL:https://www.grandars.ru/college/medicina/formennye-elementy-krovi/ (дата обращения 16.12.2022).*
6. Bessis, M. Discovery of the red blood cell with notes on priorities and credits of discoveries, past, present and future. / Bessis M., Delpech G. // Blood Cells. – 1981. – V. 7(3). P. 447-80. PMID: 7039723
7. Ruestow, E.G. The Microscope in the Dutch Republic: The Shaping of Discovery 1st Edition. Cambridge University Press. – 1996. – P. 364. ISBN 978-0521470780