

## ИЗМЕРЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК СТРУКТУРЫ ЖЕЛЧНЫХ КАМНЕЙ С ПОМОЩЬЮ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ

И.В. БАШКОВ, В.В. ПОЛЯКОВ, Г.Г. УСТИНОВ

### **Введение.**

Для проведения медицинской диагностики и выбора оптимальных режимов лечения в случае желчнокаменной болезни необходимо знание основных характеристик структуры патологических биоминеральных образований, вызывающих эту болезнь - желчных камней. Эти камни имеют весьма сложное и неоднородное строение и отличаются существенными различиями в химическом и фазовом составе [1, 2]. Данные обстоятельства требуют развития новых методов исследования, обеспечивающих надежное измерение характеристик структуры. В настоящей работе для измерения этих характеристик применялся метод атомно-силовой микроскопии, обеспечивающий получение трехмерного изображения рельефа поверхности исследуемого объекта.

### **Анализ рельефа желчных камней с помощью атомно-силовой микроскопии.**

Принцип работы атомно-силового микроскопа основан на силовом взаимодействии между зондом и поверхностью, для регистрации которого используются специальные зондовые датчики (кантилеверы), представляющие собой упругую консоль с острым зондом на конце. Процесс исследования образца методом атомно-силовой микроскопии происходит следующим образом. Исследуемый образец крепится к столику пьезоэлектрического сканера, который перемещает его относительно зонда с использованием развертки по строкам и по кадру [3, 4]. С помощью системы позиционирования зонд приближается непосредственно к поверхности образца до контакта (0,1-10 нм). Сила, действующая на зонд со стороны поверхности, приводит к изгибу консоли. Система обратной связи отслеживает и поддерживает положение зонда относительно поверхности (либо постоянное расстояние зонд-образец в режиме постоянной высоты, либо постоянное взаимодействие в режиме постоянной силы). Регистрируя величину изгиба с помощью оптической системы, можно контролировать силу взаимодействия зонда с поверхностью и получать информацию о топографии и свойствах поверхности. Регистрируемый сигнал записывается, обрабатывается компьютером, который формирует сканированное изображение рельефа поверхности и строит его с помощью графических средств. Это дает возможность получить и проанализировать трёхмерный рельеф исследуемой поверхности. В настоящей работе непосредственные измерения проводились на сканирующем зондовом микроскопе SolverNext.

Для проведения измерений была разработана специальная методика подготовки камней, заключающаяся в следующем. Вначале изготавливались шлифы камней путем подготовки специальной пластины требуемого размера. Далее из полученных шлифов вырезались плоско-параллельные образцы размером 10×10×10 мм, которые затем проходили шлифовку и полировку. Измерения рельефа поверхности шлифа проводились вдоль наиболее информативных секущих, пересекавших основные зоны – ядра камня, участки вокруг ядер, приграничные области и основные структурные элементы, предварительно выделявшиеся с помощью оптической микроскопии.

Анализ структурных элементов проводился по выделявшимся при микроскопии особенностям рельефа отдельных участков шлифа. При сканировании выбирались наиболее характерные участки зон камня, которые последовательно изучались при различных увеличениях от 1 000 крат до 30 000 крат. Такой подход позволял получить данные о структурных составляющих камня на разных масштабных уровнях. Это давало возможность выявить особенности формирования структуры конкретного биоминерального образования в процессе его формирования в организме человека.

### **Результаты измерений.**

В качестве примера приведем результаты измерений для желчного камня со строением в виде концентрических слоев и отчетливо выделяющимися зонами ядра и оболочки, его шлиф приведен на рис. 1 [5]. Преобладающим компонентом камня является пигмент, по-видимому, билирубинат кальция, кроме того, в нем присутствуют соли кальция и другие кристаллические включения.



Рис. 1. Шлиф желчного камня.

В случае желчных камней различия в прочностных свойствах и геометрических размеров отдельных структурных элементов проявляются в микронеоднородностях рельефа поверхности шлифа. В тех случаях, когда структурные элементы обладают одинаковыми механическими свойствами [6, 7], они одинаково обрабатываются при полировании и характеризуются одинаковой высотой выступов. Структурные элементы с разными прочностными характеристиками проявляются в виде неровностей разной величины. Именно эти особенности рельефа фиксируются при атомно-силовых измерениях. Таким образом, анализ получаемых трехмерных изображений рельефа поверхности позволяет получать количественные характеристики отдельных структурных элементов, образующих желчный камень.

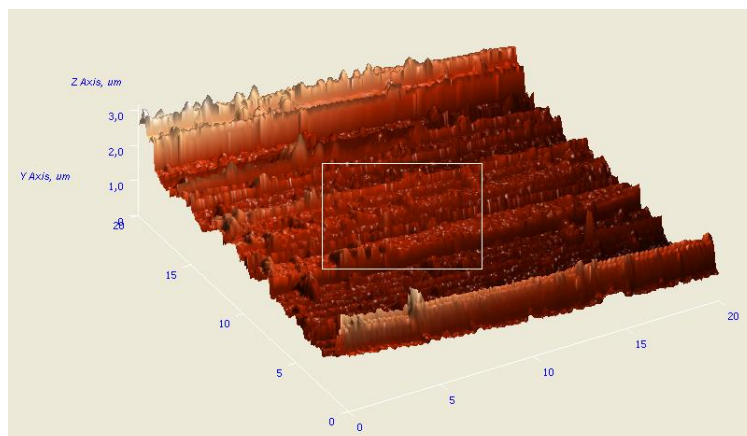


Рис. 2. Изображение зоны ядра желчного камня, х3300.

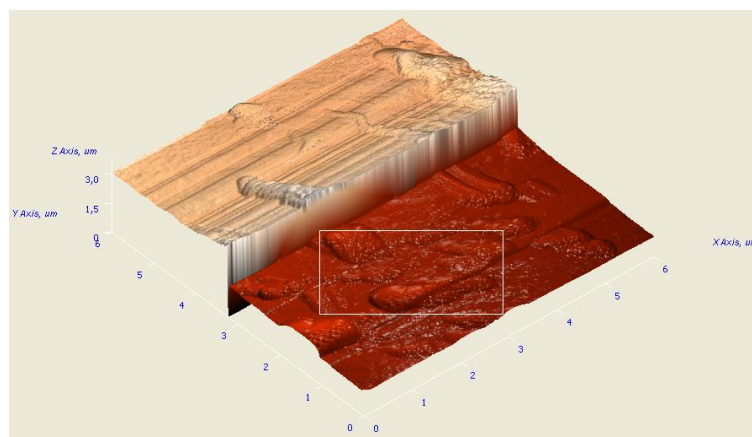


Рис. 3. Изображение зоны ядра желчного камня, х10000.

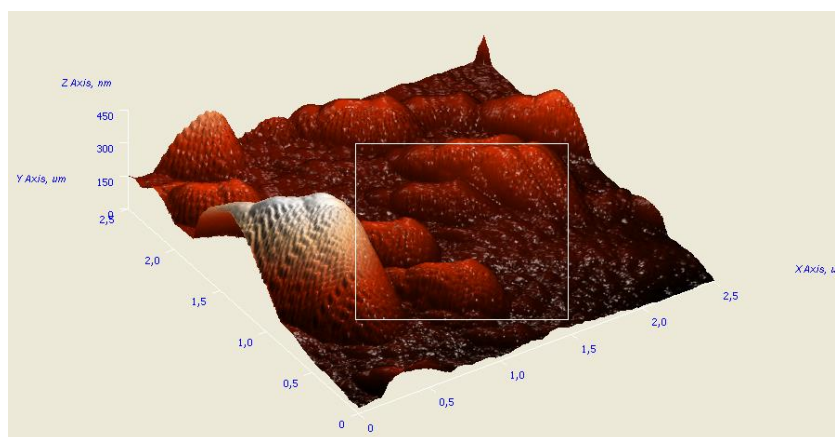


Рис. 4. Изображение зоны ядра желчного камня,  $\times 24000$ .

При атомно-силовой микроскопии первоначально выделялась относительно большая область размером  $20 \times 20$  мкм, относящаяся к центральной зоне камня. Полученный трехмерный рельеф приведен на рис. 2 ( $\times 3300$ ). Светлые участки изображения описывают более высокие точки рельефа. Видно, что отдельные неоднородности фиксируются достаточно надежно. Следующим этапом было изучение выделяемой из представленного на рис. 2 рельефа области при большем увеличении (эта область отмечена квадратом). Полученный результат приведен на рис. 3 ( $\times 10000$ ), видны неровности, образуемые на относительно ровном участке с размером  $6 \times 6$  мкм. При увеличении 24000 крат (рис.4) выделяются неровности рельефа, характеризующие уже строение одного выделенного структурного элемента.

#### **Выводы.**

В работе предложена новая методика измерений характеристик отдельных структурных элементов биоминеральных образований, апробированная на примере желчных камней. Эта методика заключается в получении трехмерного рельефа поверхности шлифа камня с помощью атомно-силовой микроскопии. Получаемое атомно-силовое изображение позволяет количественно оценить размеры и особенности строения отдельных структурных элементов, формирующих желчный камень. Полученные результаты могут быть использованы при проведении медицинской диагностики, а также для разработки новых эффективных способов безоперационного лечения.

**Литература.** 1. Поляков В.В., Устинов Г.Г., Петрухно Е.В. Исследование элементного состава и структуры желчных камней с помощью растровой электронной микроскопии // Медицинская физика. - 2010. - №4. - С. 71-77. 2. Устинов Г.Г., Поляков В.В. Структура и физико-механические свойства желчных камней: монография // Барнаул, Изд-во Алтайского ун-та, 2014. - 152с. 3. Количественный электронно-зондовый микроанализ // Под ред. В. Скотта, Г. Лава. - М.: Мир, 1986. — 352 с. 4. Глезер А.М. Сканирующая электронная микроскопия и рентгеноспектральный микроанализ // М.: Изд-во «Техносфера», 2010. – 208 с. 5. Устинов Г.Г., Поляков В.В. Применение электронной микроскопии для исследования разрушения желчных камней с помощью камнелизатов // Известия АлтГУ. 2016. № 1. С. 79-83. 6. Поляков В.В., Петрухно Е.В., Устинов Г.Г. Применение многомерного анализа данных к исследованию физико-механических характеристик биоминеральных образований // Биомедицинская радиоэлектроника. - 2011. - №12. - С. 37-41. 7. Ryan E. S., Amanuel Z. Z., Jennifer A. S.J. An in situ Atomic Force Microscopy Study of Uric Acid Crystal Growth // Phys. Chem. B. - 2005.-V.109.-P.9989-9995.

**Реквизиты для справок:** Россия, 656049, Барнаул, пр. Ленина, 61., Алтайский государственный университет, проф., д.ф.-м.н. Полякову В.В., тел. (385-2)36-70-59, e-mail: pvv@asu.ru