

## ОПТИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЕМОГЛОБИНА С УЧЕТОМ ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ

Антонов В.С., Давыдов В.М., Ованесов Е.Н., Сецко И.В.

Н П П "Техномедика", г. Москва

Надежность определения концентрации гемоглобина колориметрическим методом зависит в первую очередь от спектральных характеристик производных гемоглобина в исследуемых пробах. Если производные гемоглобина имеют различные спектры поглощения, то результат фотометрирования зависит и от относительного содержания этих производных. Наиболее точным, принятым многими странами в качестве стандартного, является гемиглобинцианидный метод [1], в котором практически все производные гемоглобина преобразуются в одну - гемиглобинцианид. Спектр поглощения гемиглобинцианида имеет широкий максимум на длине волны 540 нм, поэтому неточности в длине волны и спектральной полосе фотометрирования не оказывают существенного влияния на результат исследования. Благодаря этому возможно использовать фотометры с широкополосным зеленым светофильтром с максимумом вблизи 540 нм (например, фотометры типа ФЭК с цветным стеклом ЗС-10). Достоинством является также временная стабильность раствора гемиглобинцианида и использование его в качестве калибратора. Недостатком метода является сложность состава трансформирующего раствора, содержащего высокотоксичные вещества, и значительное (порядка 20 мин.) время преобразования.

Простым, быстрым, экономичным и не требующим токсичных реагентов методом определения концентрации общего гемоглобина является фотометрирование разведения крови в слабом растворе аммиака с помощью фотометров типа ФЭК или ГФ-Ц-04 (метод Дервиза-Воробьева, известный еще и под названием "оксигемоглобиновый", т.к. в результате реакции основной производной оказывается оксигемоглобин) [2]. Время преобразования в таком растворе составляет несколько секунд. Фотометрирование производится в широкой спектральной полосе с максимумом пропускания на длине волны 540 нм. Метод дает вполне удовлетворительные результаты, за исключением случаев с повышенным содержанием метгемоглобина. Это объясняется тем, что под действием слабого аммиачного раствора не происходит преобразование метгемоглобина

в оксигемоглобин, а коэффициент поглощения метгемоглобина на данной длине волны значительно ниже, чем у оксигемоглобина. Это и приводит к методическим ошибкам, в пределе достигающим 37%. Кроме того раствор оксигемоглобина нестойкий и поэтому не может использоваться для калибровки приборов при такой методике. На рис. 1 представлены результаты наших исследований спектра поглощения свежего разведения крови в аммиачном растворе и изменение этого спектра во времени. Видно, что спектральная кривая свежего разведения, близкая по форме к кривой оксигемоглобина, со временем трансформируется в кривую, близкую по форме к метгемоглобиновому спектру поглощения.

При исследовании спектральных характеристик различных производных гемоглобина крови установлено [3, 4], что на длине волны 523 нм коэффициенты поглощения основных производных близки (рис. 2). Авторами этих исследований предлагается измерять концентрацию гемоглобина крови на длине волны 523 нм, используя неразведенный гемолизат. Однако большая крутизна спектральной кривой поглощения оксигемоглобина на этой длине волны предъявляет жесткие требования к калибровке аппаратуры, так как незначительное отклонение от требуемой длины волны приводит к большим ошибкам. Это обстоятельство и сложная пробоподготовка делают такие исследования практически недоступными для широкой лабораторной практики.

В тоже время, если использовать простую пробоподготовку разведением крови в аммиачном растворе, а исследования проводить на длине волны 523 нм, то методическая ошибка, присущая методу Дервиза-Воробьева, устраняется, так как при этом учитываются и окси- и мет-производные гемоглобина. Упростить же оптические измерения можно, заменив сложные дорогостоящие спектрофотометры специализированным фотометром. Новый метод положен в основу разработанного в НПП "Техномедика" портативного гемоглобинометра "МиниГЕМ-523". Гемоглобинометр представляет собой фотометр, в оптическом канале которого используется узкополосный интерференционный светофильтр с максимумом пропускания на длине волны 523 нм. Чтобы избежать ошибок, связанных с технологическим разбросом параметров фильтров, каждый прибор калибруется индивидуально в заводских условиях по известной концентрации общего гемоглобина. При этом для его калибровки используется набор состоящий из аттестованных образцовых цветных стекол, имитирующих спектр поглощения оксигемоглобина в области 523 нм.

Заводская калибровка сохраняется на протяжении времени эксплуатации прибора, а для проверки правильности измерений он снабжен контрольным светофильтром. Гемоглобинометр успешно прошел Государственные приемочные испытания и медицинские испытания в Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, в Главном военном клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко и на кафедре клинической лабораторной диагностики РМАПО. Исследовалась капиллярная и венозная кровь в норме и с патологиями. Коэффициент корреляции со сравнительным гемиглобинцианидным методом составил 0.98-0.99, коэффициент вариации менее 1%. По результатам испытаний прибор рекомендован Минздравмедпромом РФ к серийному производству.

#### Литература.

1. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник под редакцией В.В.Меньшикова. М.: Медицина, 1987
2. Дервиз Г.В. и Воробьев А.И., Лабораторное дело №5, 1959
3. Snell S.M. and Marini M.A., Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 17, 1988
4. Van Kapen E.J. and Zijlstra W.G., Advances in Clinical Chemistry, 8, 1965