

Определение гликированных гемоглобинов

Образование гликированных гемоглобинов, вследствие изменения их структур и, приводящее к нарушению сродства к кислороду и, как следствие этого – к гипоксии, вызвано связыванием NH_2 -групп глобина с карбонильными группами глюкозы и образованием альдмина или основания Шиффа, дающий с щавелевой и тиобарбитуровой кислотами окрашенный комплекс, интенсивность которой зависит от концентрации гликированного гемоглобина. Предварительным этапом должно быть определение общего количества гемоглобина.

Необходимые реактивы:

1. 0,85 % раствор хлористого натрия.
2. 40 % ТХУ (трихлоруксусная кислота).
3. 1 М раствор щавелевой кислоты (22,5 г на 500 мл дистиллированной воды).
4. 0,05 М раствор тиобарбитуровой кислоты (0,72 г ТБК растворяют в 80 мл дистиллированной воды, доводят рН до 6,0 добавлением 1 н раствора едкого натра, переливают в мерную колбу и доводят до 100 мл.

Ход определения

В опыт берут такое количество гемолизата, в котором содержалось бы 10 мг гемоглобина. Объем исследуемой пробы доводится физиологическим раствором до 1,0 мл. Далее исследуемая проба после добавления 1,0 мл 1 М раствора щавелевой кислоты ставится на гидролиз в водяную баню на 3 ч при 100°C . После чего к исследуемой пробе добавляется 1,0 мл 40,0% трихлоруксусной кислоты и центрифугируют в течение 10 минут при 3 тыс. К 2,0 мл надосадочной жидкости добавляют 0,5 мл раствора тиобарбитуровой кислоты и в течение 40 минут ставят в водяную баню при 40°C для развития окраски. После охлаждения пробы смотрят их оптическую плотность при 443 нм.

В контрольную пробу вместо гемолизатов добавляется дистиллированная вода.

При расчёте исходя из того, что содержание гликированных гемоглобинов в 1,0% даёт оптическую плотность равную 0,029.

Содержание от общего гемоглобина: Новорожденные (пуповинная кровь) $2,86 \pm 0,28\%$
Дети 5-7 лет $2,50 \pm 0,51\%$
Дети 7-12 лет $2,03 \pm 0,46\%$
Взрослые люди (кровь из вены) $3,42 \pm 0,24\%$

(Flukiger и Winterhalter 1997),