

ODATIY GEMOGLOBIN-GAPTOGLOBIN KOMPLEKSIDAN FARQ QILUVCHI, INSON QON ZARDOBIDAGI ERKIN GEMOGLOBIN MIQDORINI ANIQLASH USULI

Baxodirov Behzod Baxodirovich

Toshkent davlat tibbiyot universiteti

Annotatsiya: Erkin gemoglobin (erkin Hb) miqdorini qon zardobida o'lchash, gemolitik kasalliklar bilan og'rigan bemorlarda organ zararlanishi xavfini baholashda muhim hisoblanadi. Biroq, klinik amaliyotda keng qo'llaniladigan rangli metod, erkin Hb va gemoglobin-haptoglobin kompleksi (Hb-Hp) o'rtasida farq qilmaydi, balki umumiy Hb darajasini aks ettiradi. O'lchov vaqtlari uzoq bo'lganligi sababli, o'lchashda yuqori samaradorlikka ega bo'lgan o'lchov usuli sifatida klinik qo'llanilishi cheklangan. Ushbu tadqiqotda, biz agglutinasiyasi immuniturbidimetrik o'lchov (LATIA) yordamida erkin Hbni qon zardobida tez o'lchash uchun yangi metod ishlab chiqdik, bu usul Hb-Hp dan farq qiladi. Ushbu metod, avtomatik biokimyo analizatori yordamida 15 daqiqa ichida 1–100 µg/mL oralig'ida erkin Hbni o'lchash uchun ishlatilishi mumkin. Sog'lom insonlardan olingan Hb bilan to'ldirilgan qon zardob namunalari yordamida, yangi ishlab chiqilgan metod va SEC-HPLC yordamida aniqlangan Hb darajalari o'rtasida yuqori korrelyatsiya kuzatildi, bu erkin Hb uchun aniqroq ma'lumotni ko'rsatadi. Ushbu yangi o'lchov usuli, turli gemolitik kasalliklar bilan og'rigan bemorlarda erkin Hb darajalarini monitoring qilish va o'lchangan qiymatlar asosida terapevtik strategiyalarni ishlab chiqish uchun ishlatilishi mumkin. Biroq, uning klinik samaradorligini baholash uchun qo'shimcha tadqiqotlar talab etiladi.

Kalit so'zlar: Erkin gemoglobin, Gaptoglobin, miqdoriy o'lchov, immunoassay, lateks immuniturbidimetrik o'lchov usuli, lateks agglutinasiyasi turbidimetrik immunoassay.

Dolzarbligi. Gemoglobin (Hb, molekulalaviy og'irligi 64 kDa) qizil qon hujayralarida mavjud bo'lib, organizmga kislorod yetkazib berishda muhim rol

o'ynaydi [1,2]. Gaptoglobin (Hp), plazma oqsili, gemolizdan kelib chiqadigan erkin Hbni tezda olib tashlaydigan qayta ishlovchi sifatida faoliyat yuritadi. Hp-Hbning sitotoksikligiga to'sqinlik qilib, Hb-Hp kompleksini hosil qiladi [3]. Insonlarda uchta Hp fenotipi mavjud: Hp1-1, Hp2-1 va Hp2-2, ularning barchasi Hb bilan komplekslar hosil qiladi [4]. Intravaskulyar gemoliz natijasida hosil bo'lgan erkin Hbning oz miqdori tezda Hb-Hp kompleksini hosil qilib, qon orqali tashiladi. Ammo, agar og'ir gemoliz yuzaga kelsa va qon aylanishiga katta miqdorda erkin Hb chiqarilsa (masalan, ekstrakorporal membrana kislorod berish orqali), qon orqali Hpning yetishmasligi sababli ortiqcha erkin Hb qon tarkibida qoladi [5]. Buyrak epiteliy hujayralarida, qon ichidagi Hp yetishmasligi va ortiqcha erkin Hb ning heme va globinga parchalanuvchi jarayoni buyrak zararlanishiga olib kelishi mumkin [6,7]. Ushbu muammolarni oldini olish uchun, qon tarkibidan ortiqcha erkin Hbni tezda bartaraf etish juda muhimdir. Tez o'lchash usullari erkin Hb darajalarini qon tarkibida o'lchash va Hbni Hb-Hp dan farqlash hisoblanadi. Gemoliz bilan og'rigan bemorlarda organ zararlanishi xavfini monitoring qilish va baholashda, shuningdek, Hp preparati uchun vaqt va dozani optimallashtirishda foydali bo'ladi.

Hbni o'lchash uchun gemning absorpsiyasi asosida qurilgan optik o'lchov usullari va turli miqdoriy usullar ishlab chiqilgan. Ularga spektroskopik yondashuvlar, xromatografiya, kapilyar elektroforez va ferment va oqsilga asoslangan usullar misol bo'lib xizmat qiladi [10]. Garchi gemning absorpsiyasi xususiyatlaridan foydalanadigan an'anaviy spektroskopik usullar oddiy va tez bo'lsa-da, erkin Hbni Hb-Hp kompleksidan farqlash qiyin, chunki ikkalasi ham Hbdan gem saqlaydi [11]. Ammo, agar strukturaning molekulyar og'irligi gemning absorpsiya xususiyati bilan birlashtirilsa (masalan, o'lchovdan chiqarish yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi [SEC-HPLC] da), erkin Hb va Hb-Hp o'rtasida farq qilishi mumkin, bu molekulyar og'irlik farqi va Hb-Hpning qaytarilmas bog'lanishi yordamida amalga oshiriladi [12]. Biroq, SEC-HPLC usuli past tezlik va o'lchov quvvati kamligi tufayli klinik foydalanish uchun yaroqsiz hisoblanadi. Gemoglobinning peroksidaza faolligidan foydalanadigan kimyoviy usullar

(ferment-/oqsilga asoslangan usullar) ham qiyin, chunki erkin Hb va Hb-Hp o'xshash xususiyatlarga ega [13]. Klinik foydalanish uchun qon tarkibidagi erkin Hb miqdorini aniqlash uning gemolitik holatini belgilash uchun zarur hisoblanadi.

Tadqiqotning maqsadi: Ushbu tadqiqotda, agglutinasiya immunoturbidimetrik assay (LATIA) usuliga asoslangan erkin Hbni aniq o'lchash uchun tez va oddiy texnika ishlab chiqildi. Uning reaktivlari, uyda tayyorlangan anti-inson Hb sichqonning monoklonal antitanachalari bilan qoplangan zarrachalardan iborat bo'lib, ular Hbning alfa va beta subbirliklarini taniydi. LATIA da, maqsad antigeniga bog'langan antitanacha latex zarrachalariga immobilizatsiya qilinayotganda, latex zarrachalarining agregati hosil bo'ladi va maqsad antigeni mavjud bo'lgan eritmada reaksiya beradi. Ma'lum to'lqin uzunligidagi yorug'lik ushbu agregatga qo'llanganda, tarqalgan va o'tgan yorug'likdagi o'zgarishlar hisoblanib, maqsad antigenini miqdoriy o'lchash uchun ishlatiladi [14]. LATIA usulidan foydalanuvchi analizatorlar ko'plab klinik laboratoriyalarda joriy etilgan. Ushbu analizatorlar to'liq avtomatlashtirilgan, namuna taqsimlashdan tortib natijalarni olishgacha, va natijalar 15 daqiqadan kamroq vaqt ichida olinishi mumkin. SEC-HPLC usulidan foydalanib, LATIA usuli erkin Hb bilan konsentratsiya bo'yicha bog'langan holda reaksiyaga kirishishini va Hb-Hp bilan kamdan-kam reaksiyaga kirisha olish qobiliyatini aniqladik. Shuningdek, biz erkin Hbni farqlashni yangi LATIA usuli, SEC-HPLC usuli va hozirgi kunda klinik sharoitlarda qo'llanilayotgan natriy lauril sulfat ($\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$) usuli yordamida qon zardob namunalari bilan taqqosladik.

Material va tadqiqot usullari

2.1. Qon zardob namunalari to'plash.

Qonning zardob namunalari sog'lom insonlar tomonidan topshirilgan namunalar asosidagi ichki biobankdan olingan.

2.2. Namuna tayyorlash

Hb-Hp kompleksi Hb va Hpni tuzli eritma bilan aralashtirish orqali tayyorlangan. SEC-HPLC usulida fraksiyalash uchun tahlil qilingan namunalar 0.5

mg/mL Hb va 0,035 va 0.7 mg/mL Hp ni aralashtirish orqali tayyorlangan. Erkin Hb va Hb-Hp kompleksining maxsusligini baholashda, 100 µg/mL Hb 160 µg/mL (ekvimol) Hp bilan aralashtirildi. Hb-Hp namunalari Hb konsentratsiyalarini 75, 50, 25 va 10 µg/mL tayyorlash uchun tuzli eritmada ketma-ket suyultirildi. Nazorat sifatida, Hpsiz Hb ham shunga o'xshash tarzda suyultirilib, erkin Hb sifatida baholandi. Namuna LATIA o'lchovidan oldin tuzli eritmada 20 barobar suyultirildi. Korelatsiya tahlili uchun olingan namunalar, sog'lom insonlarning qon zardob namunalari uchta idishga bo'linib, oxirgi konsentratsiyalarni 0,05 va 3.0 mg/mL ga olish uchun Hb qo'shildi. Barcha namuna 0.45 µm filtr (Merck) yordamida filtratsiyadan o'tkazildi.

2.3. Hajm ajratish xromatografiyasi yordamida miqdorlashtirish

Erkin Hb va Hb-Hp SEC-HPLC usuli yordamida Superdex 200 Increase 10/300 GL (Cytiva, Tokyo, Yaponiya) ustunida miqdorlandi. Ajratish uchun DIONEX Ultimate 3000 ishlatildi. Hbni aniqlash uchun kalibrlash egri chiziqlari Hb (JCCRM 912–3) ni 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, va 10 mg/mL ga tuzli eritmada suyultirish orqali olindi. Ustun 50 mm Tri-HCl, 300 mM NaCl pH 8.0 elutsiya buferi bilan 0.5 mL/min oqim tezligida va 25°C haroratda muvozanatga keltirildi. Keyin, kalibrlash egri chiziq namunasining 100 µL va o'lchangan namunalari kiritildi va 50 daqiqa davomida 400 nm da absorbsiyalandi. Namunalardagi Hb darajalari Hb kalibrlash egri chizig'i va cho'qqilarning kumulyatif maydonlar yordamida aniqlanadi.

2.4. SLS usuli yordamida miqdorlashtirish

SLS usuli Gemoglobin B Test Wako yordamida amalga oshirildi. O'lchovlar to'plamda ko'rsatilgan ko'rsatmalarga muvofiq bajarildi. O'lchov uchun UV-1900 (SHIMADZU Co., Kyoto, Yaponiya) absorpsiya fotometri ishlatildi.

2.5. LATIA reaktivlarini tayyorlash

Erkin Hb aniqlash LATIA usulida ikki reaksiya reaktividan iborat: bufer va latex reaktivlari. Bufer reaktiv 50 mM HEPES pH 7.4 ga moslashtirilgan holda tayyorlangan. Latex reaktiv erkin Hb (inson Hb) ga qarshi sichqoncha monoklonal

antitanachalari bilan tayyorlangan va latex zarrachalariga (JSR Co., Tokyo, Yaponiya) immobilizatsiya qilingan. Bu reaktiv 50 mM HEPES asosidagi pH 7.4 ga moslashtirilgan buferda suspenziyaga keltirilgan. Har ikkala reaktiv ham foydalanishdan oldin 4°C da saqlangan. Kalibrlash egri chizig'i uchun Hb (JCCRM 912–3) Hb kalibrator suyultirgich (Cat.No. G-PH52, Eiken Chemical Co., Tokyo, Yaponiya) bilan suyultirilib, 1, 2,5, 5, 7,5, 10, 25, 50, 75 va 100 µg/mL konsentratsiyalarini olish uchun kalibrator sifatida ishlatiladi.

2.6. LATIA usuli yordamida miqdorlashtirish

Avtomatik biokimyo analizatori BM6070 (JEOL Ltd., Tokyo, Yaponiya) quyidagi protokolga muvofiq ishlatildi. Past konsentratsiya oralig'i uchun 5 µL namuna, 50 µL bufer reaktiv va 25 µL latex reaktiv ishlatildi. Yuqori konsentratsiya oralig'i uchun, tahlil qilishdan oldin namuna 5 barobar suyultirildi, keyin 5 µL namuna, 50 µL bufer reaktiv va 50 µL latex reaktiv ishlatildi. O'lchov jarayoni har ikkala oralig'ida bir xil bo'ldi. Namuna va bufer reaktiv qo'shilgandan so'ng, reaksiya aralashmasi aralashtirilib, 37°C da 5 daqiqa davomida inkubatsiya qilindi. Keyin latex reaktiv aralashmaga qo'shib, yana 37°C da 5 daqiqa davomida inkubatsiya qilindi. Yutish ko'rsatkichi 660 nm da o'lchandi (ABS1). Yana bir inkubatsiyadan so'ng, 37°C da 5 daqiqa davomida, shu uzunlikdagi yutish ko'rsatkichi (ABS2) yana o'lchandi. Yutish ko'rsatkichi o'zgarishi ABS1 dan ABS2 ni ayirish orqali aniqlanadi. Kalibrlash egri chiziqlari o'lchangan namunalardagi erkin Hb darajalarini aniqlash uchun analizatorning egri chiziqlarni birlashtirish regressiyasi yordamida yutish ko'rsatkichi o'zgarishlari ishlab chiqildi. Namunani o'lchashdan oldin fiziologik tuzli eritma bilan 10 yoki 100 barobar suyultirildi. Suyultirish chiziqliligi sinovi uchun, namunalar past konsentratsiya oralig'ida 10 mL dan 10 qadamga va yuqori konsentratsiya oralig'ida 100 µg/mL dan 10 qadamga suyultirildi. Aniqlik sinovi uchun namunalar Hb ning 2.0 µg/mL va 20 µg/mL konsentratsiyalarida tayyorlandi. O'lchov har kuni 14 kun davomida uch marta amalga oshirildi, CLSI EP05-A3 [15] ga asosan, miqdoriy o'lchov jarayonlarining aniqligini baholash uchun ishlatiladi.

2.7. Statistika tahlili

SEC-HPLC usuli uchun kalibrlash egri chizig'i uchun integratsiyalangan cho'qqi maydonlari Thermo Scientific Chromeleon CDS dasturi yordamida olindi, bu DIONEX Ultimate 3000 bilan taqdim etilgan standart dasturdir. Har bir konsentratsiya uchun cho'qqi maydonlari, JMP versiya 16 (JMP STATISTICAL DISCOVERY, Cary, NC, AQSH) yordamida egri chiziqlarni birlashtirish asosida regressiya chizig'ini olish orqali kalibrlash egri chizig'ini ishlab chiqish uchun ishlatildi. Usullar korrelyatsiya koeffitsiyentlari va asosiy o'q regressiya chiziqlari asosida taqqoslandi. Korrelyatsiya koeffitsiyentlari HPLC, SLS va LATIA usullari yordamida olingan natijalar o'rtasidagi munosabatlarni baholash uchun ishlatildi. Barcha tahlillarda $p < 0.05$ ahamiyatli deb hisoblandi. Statistika tahlili GraphPad Prism 10.2.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, AQSH) yordamida amalga oshirilib, o'zgarish koeffitsiyentini hisoblash uchun bajarildi.

Natijalar va ularning muhokamasi.

Hb va Hb-Hp ni SEC-HPLC orqali fraktsiyalash

SEC-HPLC Hb va Hb-Hpni ajratish uchun ishlatildi. Hb birikmasi 30 daqiqa davomida saqlanish vaqti bilan bitta cho'qqi sifatida aniqlangan. Inson Hpdan tayyorlangan Hb-Hp esa 23 daqiqa saqlanish vaqt atrofida o'tkir cho'qqilarni ko'rsatadi. Hb va Hb-Hp namunalari aralashtirilganda o'xshash cho'qqilar olindi, bu esa SEC-HPLC usuli yordamida Hb va Hb-Hp ajratilganini tasdiqladi. Shundan kelib chiqib, 15–26 daqiqa saqlanish vaqti davomida aniqlangan 400 nm cho'qqi yutish ko'rsatkichi Hb-Hp sifatida qabul qilindi, 29 daqiqa saqlanish vaqti davomida aniqlangan cho'qqi esa erkin Hb deb hisoblandi. Erkin Hb ning cho'qqiyig'ilgan maydoni 0,01–10 mg/mL Hb konsentratsiyasi oralig'ida yaxshi chiziqlilikni ko'rsatdi.

LATIA yordamida erkin Hb o'lchov reaktivlarini baholash

LATIA usuli yordamida erkin Hb aniqlash uchun ikki kalibrlash egri chizig'i tuzildi: biri past konsentratsiya oralig'i (1–10 $\mu\text{g/mL}$) va ikkinchisi yuqori konsentratsiya oralig'i (10–100 $\mu\text{g/mL}$) olingan. Ikkita konsentratsiya oralig'ida

kalibrlash egri chizig'ini tasdiqlash uchun, 1–10 $\mu\text{g/mL}$ va 10–100 $\mu\text{g/mL}$ suyultirilgan namunalardan foydalanib chiziqlilik tasdiqlandi. Suyultirish chiziqliligi 1–100 mL oralig'ida yaxshi bo'lib, Hb aniqlash mumkin bo'ladi. Aniqlik tadqiqoti uchun, ikki Hb konsentratsiyasidagi (2.0 $\mu\text{g/mL}$ va 20 $\mu\text{g/mL}$) namuna takroran o'lchandi. Kunlararo aniqlik uchun CV 2.06 % va 1.43 %, kun ichidagi aniqlik uchun esa 0.89 % va 0.53 % bo'ldi, bular bir tomonlama takroriy o'lchov ANOVA yordamida hisoblandi.

Erkin Hb va Hb-Hp kompleksidan foydalanib maxsuslikni baholashda, LATIA usuli Hb-Hp bilan kam reaksiya ko'rsatdi va erkin Hb aniq o'lchandi (Rasm 3).

3.3. Heme absorbansidan foydalanib Hb aniqlash usullari va erkin Hb aniqlash reaktivlarini taqqoslash

Hp hajmi o'zgarib turadigan namunalar (Jadval 1) LATIA va SLS usullari yordamida o'lchandi va taqqoslandi. SLS usuli yordamida, Hp hajmiga nisbatan Hb o'lchovlarida sezilarli o'zgarishlar bo'lmagan, garchi namunada erkin Hb Hb-Hp shakllanishi bilan kamayishi kerak edi. LATIA usuli yordamida, Hp qo'shilishi bilan Hb darajasi kamaydi, bu esa nazariy erkin Hb darajasiga yaqinligini ko'rsatdi (Rasm 4).

Ushbu o'lchov usuli ikki reaktivdan foydalanadi: o'lchov muhitini sozlash uchun diluent va immunoagglutinasiyaga ta'sir qiluvchi va ifloslantiruvchi moddalarning ta'sirini engillashtirish uchun, shuningdek, anti-gemoglobin antikorlari bilan immobilizatsiya qilingan lateks zarrachalarining immunoagglutinasiyaga ta'sirini ko'rsatish uchun. Ushbu usulning aniqlash oralig'i **1–100 g/mL** bo'lib, ikki past va yuqori kalibrlash egri chizig'iga ega. Shuningdek, agar kuchli hemoliz kutilsa, namunani avval suyultirib, yuqori darajadagi erkin Hb o'lchash ham mumkin, bu esa minimal mehnat talab qiladi.

Hemolizni baholash uchun SLS va azido-methemoglobin usullari klinik amaliyotda tezligi va sodda bo'lishi sababli keng qo'llaniladi. SLS usuli Hb ning anion surfaktantlar bilan bog'lanishi tufayli rang bilan o'zgarishi aniqlanadi, azido-methemoglobin usuli esa oksidlangan heme rang pigmentining absorbenzini

aniqlaydi. Biroq, ushbu o'lchov prinsiplari asosida erkin Hb va Hb-Hp darajalarini farqlab o'lchash imkoniyati yo'q. Biz bu usullar yordamida faqat erkin Hb o'lchashning mumkin emasligini tasdiqladik; aksincha, Hb-Hp kompleksi va erkin Hb ikkalasi aniqlangan (Rasm 4).

Bunga qarama-qarshi ravishda, SEC-HPLC usuli erkin Hb ni aniq o'lchashga imkon beradi; ammo, uning throughput (o'lchov quvvati) past va bir namunani o'lchash uchun taxminan 1 soat vaqt talab etiladi.

Bizning yangi usulimiz oddiy protsedura yordamida va BM6070 kabi avtomatik biokimyo analizatorlari yordamida taxminan **15 daqiqada** natijalar beradi, bu esa laboratoriya tajribasida keng qo'llaniladi. Ushbu yangi usul erkin Hb uchun SEC-HPLC bilan o'xshash maxsuslikni ko'rsatadi, lekin klinik sharoitlarda tezlik va qulaylikni oshiradi.

Korrelyatsiya tahlili uchun biz sog'lom kattalar serumiga Hb qo'shilgan model namunasidan foydalandik. Agar namunaga oz miqdorda Hb (0.5 mg/mL) qo'shilsa, Hb serumdagi endogen Hp bilan bog'lanib, Hb-Hp kompleksini hosil qiladi. Agar namunaga ko'p miqdorda Hb (3.0 mg/mL) qo'shilsa, bu kuchli hemoliz modeliga aylanishi mumkin, bunda Hp yetishmaydi va erkin Hb ortiqcha bo'ladi. Bizning LATIA testi natijalari SEC-HPLC usuli bilan yaxshi korrelyatsiya koeffitsiyenti va qiyalikni ko'rsatdi (Rasm 5A), bu esa test faqat erkin Hb ni o'lchashini va serum Hp dan ta'sirlanmasligini ko'rsatadi. SLS usuli yordamida olingan natijalar bilan taqqoslaganda, SEC-HPLC tizimida past qiymatlarga sezilarli og'ishlar kuzatildi (Rasm 5C). Bundan tashqari, SLS usuli uchun qoldiq grafiklaridagi nuqtalarning tarqalishi SEC-HPLC usuli bilan natijalar o'rtasida korrelyatsiyaning yo'qligini ko'rsatdi (Rasm 5D). Bu SLS usuli serumdagi Hb-Hp ni o'z ichiga olgan holda, serumdagi Hb ning umumiy kontentini aks ettirishi bilan bog'liq deb hisoblanadi.

Ushbu tadqiqotning cheklovlaridan biri klinik dalillarning yo'qligidir. Shuning uchun, kelajakda ushbu testning klinik foydasini baholash zarur. Hemolizga ega bemorlarda erkin Hb ning haqiqiy darajalari, turli Hp fenotiplarining ta'siri va Hp formulalarini qabul qilayotgan bemorlarda erkin Hb darajalarini monitoring qilish

uchun ushbu testning samaradorligi o'rganilishi kerak (ayniqsa, yuqori konsentratsiyadagi Hp ishlatilganda). Bundan tashqari, yangi ishlab chiqilgan yondashuv va SLS usuli kabi boshqa usullar o'rtasida erkin Hb ni aniq o'lchash bo'yicha taqqoslashlar o'tkazilishi zarur. Shuningdek, o'lchov platformasi haqida, namuna tayyorlashsiz, kichik analizator va tez natija olish imkoniyatiga ega POCT tizimini ishlab chiqish, shoshilinch vaziyatlarda, masalan, jarrohlik paytida va undan keyin foydalanish uchun ko'rib chiqilishi kerak.

Xulosa

Biz LATIA usuliga asoslangan erkin Hb ni o'lchash uchun yangi test ishlab chiqdik, bu esa avtomatik biokimyo analizatori yordamida **15 daqiqa ichida** tez o'lchashni ta'minlaydi. Ushbu usul hemolizga ega bemorlarning holatini monitoring qilish va haptoglobin formulalarini dozalashtirishni optimallashtirish uchun foydalanilishi kutilmoqda.

Adabiyotlar:

- [1] M. F. Perutz, Gemoglobinada kooperativ effektlarning stereokimyoviy mexanizmi, Biochimie 54 (1972) 587–588.
- [2] M. F. Perutz va boshqalar, Gemoglobinada kooperativ effektlarning stereokimyoviy mexanizmi qayta ko'rib chiqildi, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 27 (1998) 1–34.
- [3] M. Kristiansen va boshqalar, Gemoglobinni tozalash retseptorini aniqlash, Nature 409 (2001) 198–201.
- [4] M. R. Langlois, J. R. Delanghe, Haptoglobin polimorfizmining insonlar uchun biologik va klinik ahamiyati, Clin. Chem. 42 (1996) 1589–1600.
- [5] J. R. Neal va boshqalar, ECMO yoki VAD yordamida o'tkazilayotgan bemorlarda kritik pomp trombusi diagnostikasi uchun kunlik plasma-erkin gemoglobin darajalaridan foydalanish, J. Extra Corpor. Technol. 47 (2015) 103–108.
- [6] I. C. Vermeulen Windsant va boshqalar, Hemoliz asosiy aorta jarrohligi paytida o'tkir buyrak jarohati bilan bog'liq, Kidney Int. 77 (2010) 913–920.

- [7] M. Hokka va boshqalar, Kardiyopulmonar o'tkazish bilan valvular va aorta jarrohliklarida perioperativ serumda erkin gemoglobin va haptoglobin darajalari: ularning postoperativ buyrak jarohati bilan bog'liq, J. Cardiothorac. Vasc. Anesth. 35 (2021) 3207–3214.
- [8] K. Kubota, M. Egi, S. Mizobuchi, Kardiyovaskulyar jarrohlik bemorlarida haptoglobin qo'llash: postoperativ o'tkir buyrak jarohati xavfi bilan bog'liq, Anesth. Analg. 124 (2017) 1771–1776.
- [9] D. J. Schaer va boshqalar, Haptoglobin, gemopeksin va tegishli himoya yo'llari - asosiy fan, klinik nuqtai nazar va dori ishlab chiqarish, Front. Physiol. 5 (2014) 415.
- [10] M. T. Hopp va boshqalar, Heme aniqlash va miqdorini o'lchash usullari va ularning amaliy qo'llanilishi uchun mosligi, Anal. Chem. 92 (2020) 9429–9440.
- [11] I. Oshiro, T. Takenaka, J. Maeda, Natriy lauril sulfat (SLS) yordamida gemoglobin aniqlash uchun yangi usul, Clin. Biochem. 15 (1982) 83–88.
- [12] A. P. Ratcliff, J. Hardwicke, Serum gemoglobin bog'lanish qobiliyatini (haptoglobin) Sephadex G.100 da baholash, J. Clin. Pathol. 17 (1964) 676–679.
- [13] A. Kapralov va boshqalar, Gemoglobin-haptoglobin komplekslarining peroksidaza faolligi: plasma va makrofaglarda kovalent yig'ilish va oksidlangan stress, J. Biol. Chem. 284 (2009) 30395–30407.
- [14] H. Mathies, V. Helming, Fotometrik aniqlash orqali lateks agglyutini ko'rsatkichining ko'payishi, Klin. Woche 43 (1965) 1173–1178.
- [15] R. J. McEnroe va boshqalar, CLSI. EP05-A3 - Kantitatif o'lchash jarayonlarining aniqligini baholash; Tasdiqlangan ko'rsatmalar, uchinchi nashr, 2014.