EESTI NSV TEADUSTE AKADEEMIA TOIMETISED. 22. KÖIDE
BIOLOOGIA. 1973, NR. 4

ИЗВЕСТИЯ АКАДЕМИИ НАУК ЭСТОНСКОЙ ССР. ТОМ 22
БИОЛОГИЯ. 1973, № 4

https://doi.org/10.3176/biol.1973.4.08

УДК 612.111:[578.087.1+578.087.9]+616.155.18—073.96

ЮЛО ВАХЕР

МЕТОД АВТОМАТИЧЕСКОГО ИЗМЕРЕНИЯ И ЗАПИСИ КРИВЫХ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ И СПОСОБЫ ИХ МАТЕМАТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Важность физиологических функций красной крови объясняет большой интерес исследователей в биологии, медицине и ветеринарии к изучению гемолитической резистентности эритроцитов как в норме, так и в патологии (Терсков, Гительзон, 1960; Фридман, 1963; Панцхава, 1969; Simmel, 1933; Matthes, 1960).

Особые достоинства по сравнению с биохимическими имеют методы определения **распределения** эритроцитов по гемолитической резистентности (дисперсионные методы), так как они позволяют установить изменения у небольших групп клеток, которые не обнаруживаются при измерении средних данных по всей популяции эритроцитов (Терсков, Гительзон, 1967). Кривые распределения (спектры) резистентности эритроцитов дают в принципе более полную информацию о состоянии эритрона, но их экспериментальное определение требует большого количества исследуемого материала (крови) и времени. Предложенный И. Гительзоном и И. Терсковым (1957, 1959) метод определения распределения эритроцитов по резистентности на основе измерения кинетики гемолиза в подкисленном соляной кислотой изотоническом растворе хлористого натрия (так наз. метод кислотных эритрограмм) сократил количество требуемой для анализа крови до 0,02 *мл*. За последнее десятилетие этот метод получил широкое распространение в нашей стране (об этом свидетельствуют три сборника «Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов», 1960, 1961 и 1967). Однако в целом хорошо себя зарекомендовав, метод остался трудоемким, так как связан с ручным определением на ФЭК-М оптической плотности взвеси эритроцитов через 30-секундные интервалы времени, что требует от лаборанта много внимания, напряжения и быстро утомляет. Определение непрерывно изменяющейся оптической плотности по уравновешиванию световых потоков с помощью оптических клиньев в точно предопределенные моменты времени практически невозможно, вследствие чего неизбежны ошибки (разброс результатов) и получаемые кривые распределения (эритрограммы) приобретают искаженный зубчатый вид, в то время как истинные кривые должны быть плавными. Другой существенный недостаток метода эритрограмм в том, что он применялся как **качественный**, изменения в эритрограммах выражались в таких формулировках, как сдвиг правого и/или левого крыла (редко максимума) вправо или влево, которые основывались на субъективных впечатлениях без оценки статистической погрешности опыта и достоверности разницы между изучаемыми вариантами. Необходимо было предложить **количественные** параметры, достаточно полно характеризующие кривые распределения эритроцитов по резистентности, и разработать методы их математико-статистической обработки. Решению этих задач и посвящается данная работа.

Метод автоматического измерения и записи кривых гемолиза эритроцитов

Аппаратура для автоматического измерения и записи интегральных кривых гемолиза создана нами из приборов, серийно выпускаемых отечественной промышленностью.

1) Фотоэлектроколориметрическое измерение оптической плотности взвеси гемолизирующихся эритроцитов осуществляется флуориметром-абсорбциметром «Анализ-1» (ФАС-2). К ФАС-2 присоединяется камера для кювет из комплекта прибора. Камера переоборудуется следующим образом: каретка для держателя кювет заменяется водяной рубашкой для термостабилизации измерительной кюветы. Последняя изготавливается из медной жести с гнездом для кюветы длиной оптического пути 1 *см*. В боковых стенках водяной рубашки оставляются круглые отверстия диаметром 20 *мм* для пучка света. К стенке рубашки припаиваются два штуцера, на которые надеваются резиновые трубки для подвода воды из ультратермостата. Трубки выводятся через оставшиеся после удаления каретки отверстия в правой стенке камеры. Устанавливается первичный светофильтр для длины волны света $\lambda = 600$ *нм*. В карман камеры устанавливаются вторичные светофильтры НС-8 и КС-13 из комплекта прибора.

2) Термостатом служит ультратермостат ТС-15М или любой другой, обеспечивающий точность регулирования температуры воды в пределах $\pm 0{,}2\,^{\circ}C$ и имеющий насос для подачи воды в водяную рубашку кюветы. Охлаждающий змеевик ультратермостата соединен с водопроводом. По контактному термометру устанавливается такой режим работы, при котором температура в кювете равна 24°.

3) Магазин сопротивлений Р-32. С помощью проводов он включается последовательно со стрелочным прибором (М-24 на 50 *мка*) основного блока прибора «Анализ-1». На магазине выбирается такое сопротивление, чтобы падение напряжения на нем при токе 50 *мка* равнялось верхнему пределу измерения самопишущего прибора (обычно 200 *ом*).

4) Самопишущий электронный автоматический потенциометр типа ЭПП-09 для датчиков напряжения с пределом измерения 0—10 *мв*, временем пробега кареткой шкалы 2,5 *сек* и числом точек измерения и записи 12 или 24. На колодке 4 потенциометра все клеммы в ряду А соединяются между собой и с клеммой «0» магазина сопротивлений Р-32, а все клеммы ряда Б — с клеммой «9999» магазина Р-32. В редукторе синхронного двигателя устанавливаются с помощью соответствующей таблицы на щитке прибора зубчатые колеса, при которых скорость передвижения диаграммной ленты составляет 12 *мм/мин*, а цикл печатания длится 10 *сек*.

Для проведения измерения приборы «Анализ-1», ЭПП-09 и ТС-15М включаются согласно инструкциям и прогреваются в течение 30 *мин*. При закрытой шторке устанавливаются стрелки приборов «Анализ-1» и ЭПП-09 на 0. В кювету наливается 0,9%-ный раствор хлористого натрия и ручками управления диафрагм ФЭУ и УФО при открытой шторке стрелка прибора устанавливается на 100-е деление шкалы коэффициента пропускания. Пробу исследуемой крови (0,02 *мл*) набирают с помощью микропипетки, разводят в 10 *мл* (кровь млекопитающих) или 5 *мл* (кровь птиц) 0,9%-ного раствора хлористого натрия и ставят в ультратермостат при 24°. После уравновешивания температуры 2 *мл* взвеси эритроцитов переносят в кювету «Анализ-1»; включают лентопротяжный механизм потенциометра ЭПП-09; проверяют (и если нужно регулируют) 0. В пипетку набирают 2 *мл* гемолитика (0,004 н. соляная кислота)

и во время печатания на ленте ЭПП-09 номера 12 (или 24) вносят в кювету «Анализа-1». Это — начало гемолиза. Камеру закрывают крышкой. В дальнейшем аппаратура автоматически измеряет коэффициент пропускания гемолизирующейся взвеси эритроцитов и через каждые 10 *сек* печатает на ленте самописца. Преимущество записи кривой гемолиза по точкам перед непрерывной записью в том, что отпадает необходимость измерения на ленте расстояний от начальной линии для определения значений абсцисс — времени гемолиза, так как это определяется автоматически по цифрам, которые печатаются рядом с точками. Кроме того, в тех случаях, когда дисперсия резистентности эритроцитов мала и они гемолизируются в пределах короткого промежутка времени (например эритроциты птиц), погрешности в определении расстояний порядка 1 *мм* могут приводить к большим ошибкам (до 20%) при последующем построении дифференциальных кривых распределения (эритрограмм).

Необходимо отметить, что разработанный нами метод автоматической записи кинетики гемолиза не только повышает производительность труда и существенно увеличивает точность измерения, но делает возможным и получение эритрограмм в тех случаях, когда это при существующем ручном способе практически невозможно. Примером служат эритрограммы ядерных эритроцитов птиц (кур), которые обычно гемолизируются за 80—100 *сек*. Методом И. Гительзона и И. Терскова за это время можно получить только три точки, по которым построение истинной кривой распределения практически невозможно.

Одно из преимуществ нашего метода — возможность точного измерения путем переключения «Анализ-1» на два раза бóльшую чувствительность при работе с эритроцитами кур, в процессе гемолиза которых изменение оптической плотности малó из-за рассеяния света оставшимися после гемолиза ядрами клеток. При этом выбирается такое разведение крови, при котором коэффициент пропускания после гемолиза не превышает 50%.

Наш метод автоматической записи позволяет получать не только кислотные, но и осмотические эритрограммы. При этом в качестве гемолитика используется дистиллированная вода (4 *мл*), а в редукторе устанавливаются скорость движения диаграммной ленты, равная 40 *мм/мин*, и цикл печатания 3 *сек* (при необходимости можно увеличить скорость движения ленты до 160 *мм/мин*, а цикл печатания сократить до 0,75 *сек*). Преимуществом такого метода автоматической регистрации **осмотической** резистентности является то, что время гемолиза всех эритроцитов измеряется при постоянной концентрации гемолизирующего раствора в отличие от способа Т. Е. Аллена (Allen, Sheilds, 1966) на спектрофотометре Спинко Аналитрол, при котором эритроциты гемолизируются при изменяющейся концентрации солевого раствора в процессе диализа против дистиллированной воды.

Методы математико-статистического анализа кривых гемолиза эритроцитов

Получаемая с помощью разработанного нами метода точечная кривая содержит полную информацию о кинетике гемолиза и распределении эритроцитов по резистентности, но еще не является интегральной кривой распределения, так как последняя представляет собой кривую изменения **оптической плотности**, как известно, пропорциональную количеству эритроцитов во взвеси (Терсков, 1957; Терсков, Сидько, 1961); полученная же на ленте самописца кривая является изменением во времени **коэффициента пропускания** взвеси эритроцитов. Для получения интеграль-

ного распределения гемолитической резистентности эритроцитов исходим из функциональной связи между оптической плотностью D_i и коэффициентом пропускания τ_i:

$$D_i = 2 - \lg \tau_i \qquad (i = 1, 2, \ldots, n), \tag{1}$$

где D_i и τ_i — значения D и τ, измеренные в момент t_i.

Переход от τ_i к D_i можно практически осуществить тремя способами:

1. С помощью таблиц, составленных на основании уравнения (1) по обычным таблицам логарифмов.

2. Графически: на полоску, вырезанную из диаграммной ленты поперечно, нанести на соответствующих местах деления D_i, вычисленные по формуле (1), т. е. шкалу оптической плотности. Наложением этой полоски на ленту рядом с точками анализируемой кривой гемолиза можно отсчитать значения D_i прямо со шкалы полоски.

3. С помощью логарифмической линейки: цифры 0; 1; 2; ...; 10 на шкале L заменяются соответственно цифрами 1,0; 0,9; 0,8; ...; 0, а к цифрам по шкале D приписываются нули (можно и мысленно). Теперь на шкале L — соответствующие значения оптической плотности. Переход от τ к D и наоборот можно осуществить простым перемещением визирной линии и отсчетом на противоположной шкале.

Строя по точкам $D_i(t_i)$ график, получаем интегральную кривую гемолиза. Однако исследователя чаще интересует интегральная кривая распределения резистентности (времени гемолиза) эритроцитов. Эта кривая $y(t)$ выражает вероятность того, что резистентность r эритроцита меньше t:

$$y(t) = P(r < t). \tag{2}$$

Обозначая через D_0 оптическую плотность взвеси эритроцитов в момент, когда гемолиз еще не начинался, и через D_∞ — оптическую плотность после его завершения, получаем уравнение для интегрального распределения эритроцитов

$$y_i(t_i) = \frac{D_i(t_i) - D_0}{D_0 - D_\infty}. \tag{3}$$

По значениям $y_i(t_i)$ можно легко построить и дифференциальную кривую резистентности $z(t)$, точнее — плотности вероятности ее, выражающую долю в популяции эритроцитов, имеющих резистентность между t и $t+dt$. Так как $z(t)$ является первым производным $y(t)$ по времени

$$z(t) = \frac{dy}{dt}, \tag{4}$$

то его можно получить численным дифференцированием интегральной кривой резистентности:

$$z_i\left(\frac{t_{i+1}+t_i}{2}\right) = \frac{\Delta y_i}{\Delta t_i} = \frac{D_{i+1} - D_i}{(D_0 - D_\infty)(t_{i+1} - t_i)} \qquad (i = 1, 2, \ldots, n). \tag{5}$$

Так наз. эритрограмма не дает правильной дифференциальной кривой распределения, так как она строится по точкам z_i', которые в наших обозначениях вычисляются по формуле (Терсков, Гительзон, 1957)

$$z_i'(t_i) = \frac{D_{i+1} - D_i}{2(D_0 - D_\infty)(t_{i+1} - t_i)},$$

т. е. абсциссы смещены на 15 *сек* влево и ординаты уменьшены в 2 раза по сравнению с истинными значениями.

Кривая $y(t)$ часто аппроксимируется функцией (Терсков, Гительзон, 1960)

$$y(t)=\frac{kt^m}{1+kt^m}. \tag{6}$$

Учитывая (4), после дифференцирования получаем

$$z(t)=\frac{kmt^{m-1}}{(1+kt^m)^2}. \tag{7}$$

Таким образом, интегральная и дифференциальная кривые резистентности определяются значениями двух параметров m и k.

Следовательно, в таких случаях задача сводится к вычислению m и k и их стандартных ошибок по экспериментально измеренным $y_i(t_i)$. Она нами решена ранее (Vaher, 1963). При использовании метода наименьших квадратов мы получили:

$$\begin{cases} m=\dfrac{nE-AC}{nB-A^2} \\ k=A\lg\dfrac{AE-BC}{nB-A^2} \end{cases} \tag{8}$$

$$\begin{cases} s_m=s\sqrt{\dfrac{n}{nB-A^2}} \\ s_k=\dfrac{ks\ln 10}{\sqrt{n}}\sqrt{1+\dfrac{A^2}{nB-A^2}} \end{cases}, \tag{9}$$

где

$$\begin{cases} A=\Sigma\lg t_i \\ B=\Sigma(\lg t_i)^2 \\ C=\Sigma\lg\dfrac{y_i}{1-y_i} \\ E=\Sigma(\lg t_i)\lg\dfrac{y_i}{1-y_i} \end{cases} \tag{10}$$

и

$$s=\sqrt{\frac{(nB-A^2)(nD-C^2)-(nE-AC)^2}{n(n-2)(nB-A^2)}}. \tag{11}$$

В практике лучше пользоваться не абстрактными m и k, а величинами T_{50}, T_{10} и T_{90}, которые имеют простой физиологический смысл: T_{50} — медиана распределения резистентности, т. е. 50% эритроцитов имеют резистентность выше T_{50}, а 50% — ниже T_{50}. Резистентность ниже T_{10} имеют только 10%, а ниже T_{90} — 90% эритроцитов. Параметрами T_{10} и T_{90} удобно пользоваться как условными показателями начала и конца гемолиза (соответственно минимальной и максимальной резистентности). Если применима (6), то

$$T_{50}=\left(\frac{1}{k}\right)^{\frac{1}{m}} \tag{12}$$

$$\begin{cases} T_{10}=\left(\dfrac{1}{9k}\right)^{\frac{1}{m}} \\ T_{90}=\left(\dfrac{9}{k}\right)^{\frac{1}{m}}. \end{cases} \tag{13}$$

Из (12) и (13) следует, что

$$\frac{T_{50}}{T_{10}} = \frac{T_{90}}{T_{50}}. \tag{14}$$

Стандартные ошибки параметров T_{10}, T_{50} и T_{90} можно вычислить по формулам:

$$s_{T_{50}} = \frac{T_{50}}{m}\sqrt{\frac{s_k^2}{k^2} + (\ln 10)^2 T_{50} s_m^2}, \tag{15}$$

$$s_{T_{10}} = T_{10}\sqrt{\left(\frac{\ln 9}{m}\right)^2\left(\frac{s_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{S_{T_{50}}}{T_{50}}\right)^2}, \tag{16}$$

$$s_{T_{90}} = T_{90}\sqrt{\left(\frac{\ln 9}{m}\right)^2\left(\frac{s_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{S_{T_{50}}}{T_{50}}\right)^2}. \tag{17}$$

Формулами (15) — (17) можно пользоваться при оценке статистической достоверности разницы между **отдельными** кривыми. Когда же оценивается разница между **группами** кривых (например, между опытной и контрольной группами животных), для каждой группы вычисляются среднее значение T_{10}, T_{50} и T_{90} и их ошибки; достоверность различия определяется обычными статистическими методами.

В практике часто встречаются случаи, особенно при патологических состояниях эритрона, когда (6) не применима, а аналитический вид функции, аппроксимирующей $y\ (t)$, не известен. Тогда формулами (7) — (17) пользоваться нельзя и характеристики распределения гемолитической резистентности T_{10}, T_{50} и T_{90} необходимо определять непосредственно интерполированием между парами точек $y_i(t_i)$ и $y_{i+1}(t_{i+1})$ при условии, что $y_i < T_k < y_{i+1}$, где ($k = 10$, 50 и 90). При линейном интерполировании

$$T_k = t_i + \frac{\left(\frac{k}{100} - y_i\right)d}{y_{i+1} - y_i}, \tag{18}$$

где d — длительность цикла печатания (в нашем случае $d = 10$ *сек*). Так как при линейном интерполировании ошибки пропорциональны квадрату длины интервала, то наш метод позволяет определить параметры T_{10}, T_{50} и T_{90} в 9 раз точнее, чем метод эритрограмм И. Гительзона и И. Терскова, при котором интервалы между измерениями составляют 30 *сек*.

Значения параметров T_{10}, T_{50} и T_{90} можно определять, не прибегая к вычислению y_i, что при большом количестве точек (50—100) все же занимает много времени. Учитывая аналитическую зависимость между оптической плотностью и коэффициентом пропускания (1), можно записать:

$$D_0 = 2 - \lg \tau_0 \tag{19}$$

$$D_\infty = 2 - \lg \tau_\infty \tag{20}$$

$$D_{T_{10}} = 2 - \lg \tau_{10} \tag{21}$$

$$D_{T_{50}} = 2 - \lg \tau_{50} \tag{22}$$

$$D_{T_{90}} = 2 - \lg \tau_{90} \tag{23}$$

Так как оптическая плотность пропорциональна числу не гемолизированных к данному моменту эритроцитов, общее число эритроцитов пропор-

ционально $D_0 - D_\infty$, а оптическая плотность в момент гемолиза 50% эритроцитов равняется средней между D_0 и D_∞, т. е.

$$D_{T_{50}} = \frac{D_0 + D_\infty}{2} . \quad (24)$$

Подставляя в (24) D_0, D_∞ и $D_{T_{50}}$ из (19), (20) и (22), получаем

$$2 - \lg \tau_{50} = 4 - (\lg \tau_0 + \lg \tau_\infty),$$

а после несложных преобразований

$$\tau_{50} = \sqrt{\tau_0 \cdot \tau_\infty} . \quad (25)$$

Оптическая плотность при гемолизе 10 и 90% эритроцитов выражается следующим образом:

$$D_{T_{10}} = D_0 - \frac{D_0 - D_\infty}{10} \quad (26)$$

$$D_{T_{90}} = D_\infty + \frac{D_0 - D_\infty}{10} . \quad (27)$$

Подставляя (19) — (23) в (26) и (27), находим также

$$\tau_{10} = \tau_0 \sqrt[10]{\frac{\tau_\infty}{\tau_0}} \quad (28)$$

$$\tau_{90} = \tau_\infty \sqrt[10]{\frac{\tau_0}{\tau_\infty}} . \quad (29)$$

Таким образом, для определения параметров T_{10}, T_{50} и T_{90} необходимо просто считать с ленты самописца τ_0 и τ_∞, вычислить по формулам (25), (28) и (29) τ_{50}, τ_{10} и τ_{90} и отсчитать на ленте соответствующее им время T_{10}, T_{50} и T_{90}. При этом τ_{10}, τ_{50}, τ_{90} проще всего вычислять на логарифмической линейке. Математическая обработка одной кривой гемолиза занимает не более 1 *мин*. При массовых анализах можно составлять готовые таблицы τ_{10}, τ_{50}, τ_{90} для любых пар τ_0 и τ_∞. В этом случае время, затрачиваемое на определение T_{10}, T_{50} и T_{90} для одной кривой, не превышает 10 *сек*.

Описанные методы применялись нами начиная с 1966 г. С их помощью было получено и обработано несколько тысяч кривых гемолиза эритроцитов как в норме, так и патологии у различных видов животных. Практика полностью оправдала их.

ЛИТЕРАТУРА

Гительзон И. И., 1960. Состав красной крови в норме и патологии. (Исследование методом фотоэлектрических эритрограмм). Автореф. докт. дисс. Томск.

Гительзон И. И., Терсков И. А., 1959. Эритрограммы как метод клинического исследования крови. Красноярск.

Панцхава А. Д., 1969. Качественные изменения форменных элементов крови. Тбилиси.

Терсков И. А., 1957. Спектрофотометрическое исследование крупно-дисперсных окрашенных частиц биологического происхождения (эритроцитов). Автореф. докт. дисс. Красноярск.

Терсков И. А., Гительзон И. И., 1957. Метод химических (кислотных) эритрограмм. Биофизика 2 (2) : 259—266.

Терсков И. А., Гительзон И. И., 1960. Кинетика гемолиза и ее зависимость от неоднородностей в составе эритроцитов и условий проведения реакции. В сб.: Вопр. биоф., биох. и патологии эритроцитов. Новосибирск : 62—70.
Терсков И. А., Гительзон И. И., 1967. Значение дисперсионных методов анализа эритроцитов в норме и патологии. В сб.: Вопр. биоф., биох. и патологии эритроцитов. М. : 41—48.
Терсков И. А., Сидько Ф. Я., 1961. Рассеяние света во взвеси эритроцитов. В сб.: Вопр. биоф., биох. и патологии эритроцитов. Красноярск : 77—93.
Фридман Л. М., 1963. Осмотическая и механическая резистентность эритроцитов при анемических состояниях. Тбилиси.
Allen T. E., Sheilds C. E., 1966. Recording osmotic fragility of red cells on the Spinco Analytrol. Am. J. Clin. path. **45** (1) : 112—114.
Matthes M., 1960. Resistenzbestimmungen. В кн.: Handbuch der ges. Hämatologie II-2/2. München : 131—161.
Simmel H., 1933. Die Resistenzbestimmung der Erythrozyten. В кн.: Handbuch der allgemeinen Hämatologie. II/1 Berlin : 495—584.
Vaher Ü., 1963. Hemolüütiliste erütrospektrite jaotuskõverad ja nende parameetrite arvutamine. В кн.: Kaasaegne matemaatika ja tema rakendusalad. Tartu : 32—35.

Институт экспериментальной биологии
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
23/I 1973

ÜLO VAHER

ERÜTROTSÜÜTIDE HEMOLÜÜSIKÕVERATE AUTOMAATSE MÕÕTMISE JA REGISTREERIMISE NING NENDE MATEMAATILIS-STATISTILISE ANALÜÜSI MEETODID

Resümee

Kirjeldatakse autori konstrueeritud seadet erütrotsüütide happelise ja osmootse hemolüüsi kineetiliste kõverate automaatseks registreerimiseks. Kõnesoleva seadme põhiosadeks on Nõukogude Liidus seeriaviisiliselt toodetavad fluoromeeter «Анализ-1» (ФАС-2), potentsiomeeter ЭПП-09, ultratermostaat ТС-15М ja takistusmagasin Р-32. Artiklis on tuletatud valemid erütrotsüütide hemolüütilise resistentsuse integraalsete ja diferentsiaalsete jaotuskõverate leidmiseks. Hemolüüsikõverate statistiliseks analüüsiks soovitatakse kasutada parameetreid T_{10}, T_{50} ja T_{90}, mis tähistavad vastavalt 10, 50 ja 90% erütrotsüütide hemolüüsiks kulunud aega. Esitatakse valemid nende parameetrite ning viimaste standardivigade arvutamiseks.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalbioloogia Instituut

Toimetusse saabunud
23. I 1973

ÜLO VAHER

AN APPARATUS FOR AUTOMATIC MEASURING AND RECORDING OF THE RED BLOOD CELL HAEMOLYTIC FRAGILITY CURVES AND METHODS FOR THEIR STATISTICAL ANALYSIS

Summary

An apparatus for the automatic measuring and recording of erythrocyte haemolysis curves in acid or hypotonic medium is described. The basic units of the apparatus are fluorometer "Анализ-1" for the automatic determination of light transmission in erythrocyte suspension at wave-length 600 nm, and potentiometric recorder ЭПП-09 for recording light transmission as a function of haemolysis time. The temperature stabilizing the red blood cell suspension is provided by means of ultrathermostat ТС-15М. The method is economical, precise and can be used in conditions in which the application of the original method of acid erythrograms proposed by Terskov and Gitelson is impossible.

The parametres T_{10}, T_{50} and T_{90} (the time needed for haemolyses of respectively 10, 50 and 90% of erythrocytes) are proposed for a statistical evaluation of haemolysis curves (erythrograms), and methods and formulas for their computation are derived.

Academy of Sciences of the Estonian SSR,
Institute of Experimental Biology

Received
Jan. 23, 1973