

Vplyv skladovania izolovaných membrán erytrocytov pri rôznych teplotách na ich membránovú fluiditu

Peter Slezák

Fakulta matematiky fyziky a informatiky, Mlynská dolina, 842 48 Bratislava
e-mail: peter.slezak5@gmail.com

Merali sme vplyv uskladnenia vzoriek pri rozdielnych teplotách uskladnenia (približne: +4 °C, -30 °C, -196 °C), v tme po dobu dvoch dní, na fluiditu plazmatických membrán izolovaných z ľudských erytrocytov. Izolácia membrán bola uskutočňovaná štandardnou metódou podľa Hanahanu a Ekholma [1] s drobnými úpravami. Vplyv na fluiditu membrán erytrocytov bol študovaný meraním anizotropie fluorescencie sondy difenylhexatriénu (DPH). Cieľom práce bolo určiť najvhodnejšiu metódu uskladnenia, ktorá zaručí reprodukovateľnosť výsledkov meraní membránovej fluidity na uskladnených membránach v porovnaní s čerstvými vzorkami. Hodnotili sme trojparametrové komprehenzívne skóre [2] určené podľa vzťahu:

$$CS_{(\text{vývoj anizotropie})} = [\text{Std } (x/SD): r_{\infty}] + [\text{Std } (x/SD): r_0] + [\text{Std } (x/SD): k],$$

ktoré v jednej hodnote obsahuje informáciu o všetkých parametroch popisujúcich vývoj stacionárnej anizotropie fluorescencie v čase (pozri vzťah nižšie), normovaných na hodnoty smerodajnej odchýlky, každého čiastkového parametra. Hodnotili sme aj osobitne jednotlivé parametre popisujúce vývoj stacionárnej anizotropie v čase. Model popisujúci vývoj anizotropie fluorescencie [3]:

$$r(t) = (r_0 - r_{\infty})e^{-kt} + r_{\infty}$$

Sledovali sme taktiež mieru peroxidácie membránových lipidov a jej vplyv na zmenu membránovej fluidity, mieru lipoperoxidácie sme stanovovali TBA testom.

Zo sledovaných metód uskladnenia sa štatisticky signifikantne v hodnote komprehenzívneho skóre odlišuje, v porovnaní s kontrolou, ktorú predstavovala čerstvá vzorka, metóda uskladnenia pri teplote +4 °C, tým pádom ju neodporúčame používať. Vzorky skladované zvyšnými dvoma spôsobmi uskladnenia sa od kontrolných vzoriek štatisticky významne neodlišovali ani v jednom sledovanom parametri. Z nameraných výsledkov ďalej vyplýva, že pri našich experimentoch nedošlo k poškodeniu vzoriek vplyvom lipoperoxidácie. Avšak z dôvodu príliš veľkej interindividuálnej variability dáť by bolo vhodné experiment doplniť o ďalšie merania.

[1] Hanahan, D.J.; Ekholm, J.E.: *Methods in Enzymology*, **1974**, 31, 168–177.

[2] Watala, C.; Ulicna, O.; Golandski, J.; Nocun, M.; Waczulikova, I.; Markuszewski, L.; Drzewoski, J.: *Blood Coagul. Fibrinolysis*, **2006**, 17, 113–124.

[3] Šikurová, L.; Nemcová, P.; Kvasnička, P.; Hianik, T.: *Journal of fluorescence*, **1997**, 7, 151–153.