



Univerzita P.J. Šafárika, Lekárska Fakulta, Košice
Ústav lekárskej a klinickej biofyziky, Košice

Biochemická a proteomická analýza krvi potkanov po aplikácii nízko-úrovňovej laserovej terapie

**¹Veronika Kováčová, ¹Peter Bober, ¹Martina Chmelová, ¹Ivan Talian, ¹Elena
Tóthová, ³Ján Hrubovčák, ²Darina Petrášová, ¹Imrich Géci, ¹Ján Sabo**

¹Ústav lekárskej a klinickej biofyziky, LF UPJŠ v Košiciach, Trieda SNP 1, 040 11, Košice

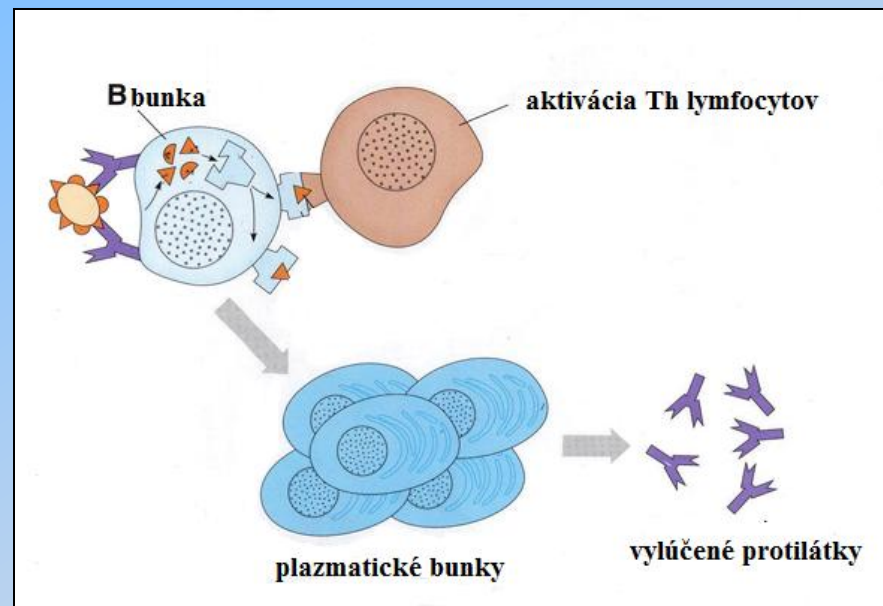
²Centrálny zvieratník, LF UPJŠ v Košiciach, Trieda SNP 1, 040 11, Košice

³Urologická klinika, UNLP v Košiciach, Rastislavova 43, 041 90, Košice

XXXVI. Dni lekárskej Biofyziky, 29-31. máj 2013, Lázně Bělohrad

Úvod

- Pozitívny účinok lasera na organizmus
- Laser- aktivácia imunokomplexných systémov- nárast interleukínov a Th lymfocytov- aktivácia B lymfocytov – produkcia protilátok (imunoglobulínov)



Experimentálna časť

I. Skupina
Kontrolná vzorka

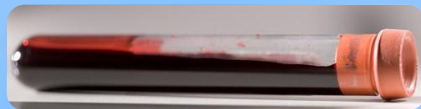


II. Skupina
Ožarované
potkany



vlhová dĺžka 830 nm,
výkon 450 mW
denná dávkou 60 J.cm²

Po 9 dňoch
Izolácia krvi



centrifugácia

2000 g, 4°C, 10 min



plazma

leukocyty

erytrocyty

Hematologické testy
Krvný obraz

Proteomická analýza
2 DE
MALDI-MS

Proteomická analýza krvnej plazmy

Príprava vzorky:

1. Izolácia proteínov z plazmy —————> 10% TCA-acetón
2. Prečistenie proteínov —————> acetónom
3. Rozpustenie proteínov —————> rehydratačný roztok

2 DE :

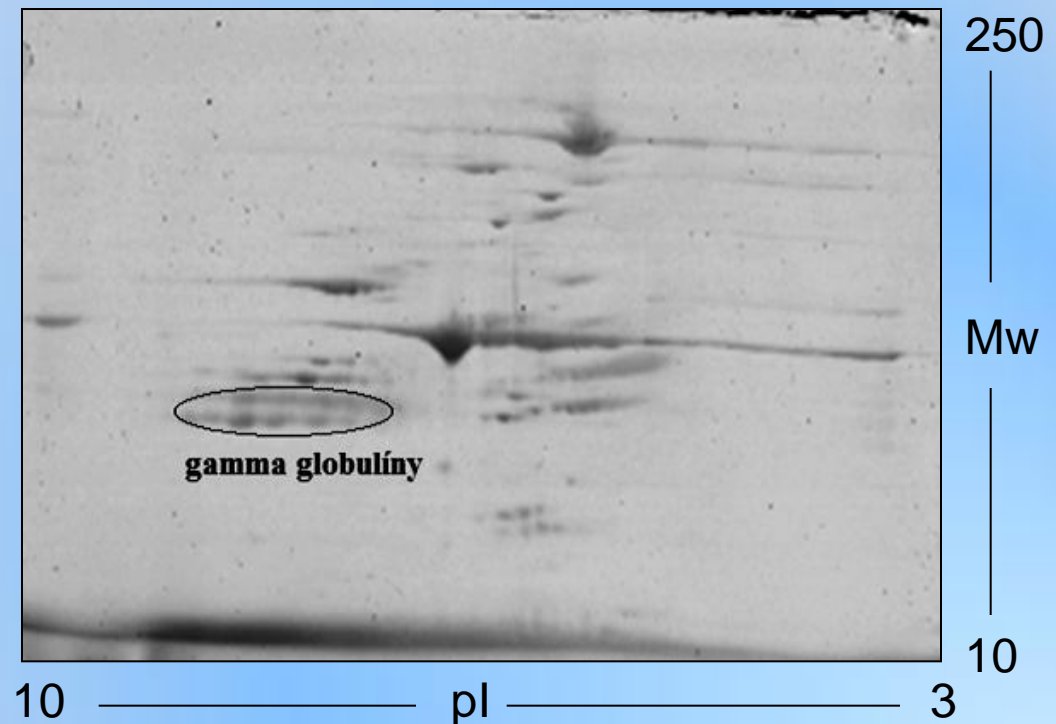
1. IEF
2. 2 DE

Analýza programom Pdquest

Vyrezanie proteínových škvŕn

Digescia – trypsínom

Identifikácia MALDI-TOF/TOF

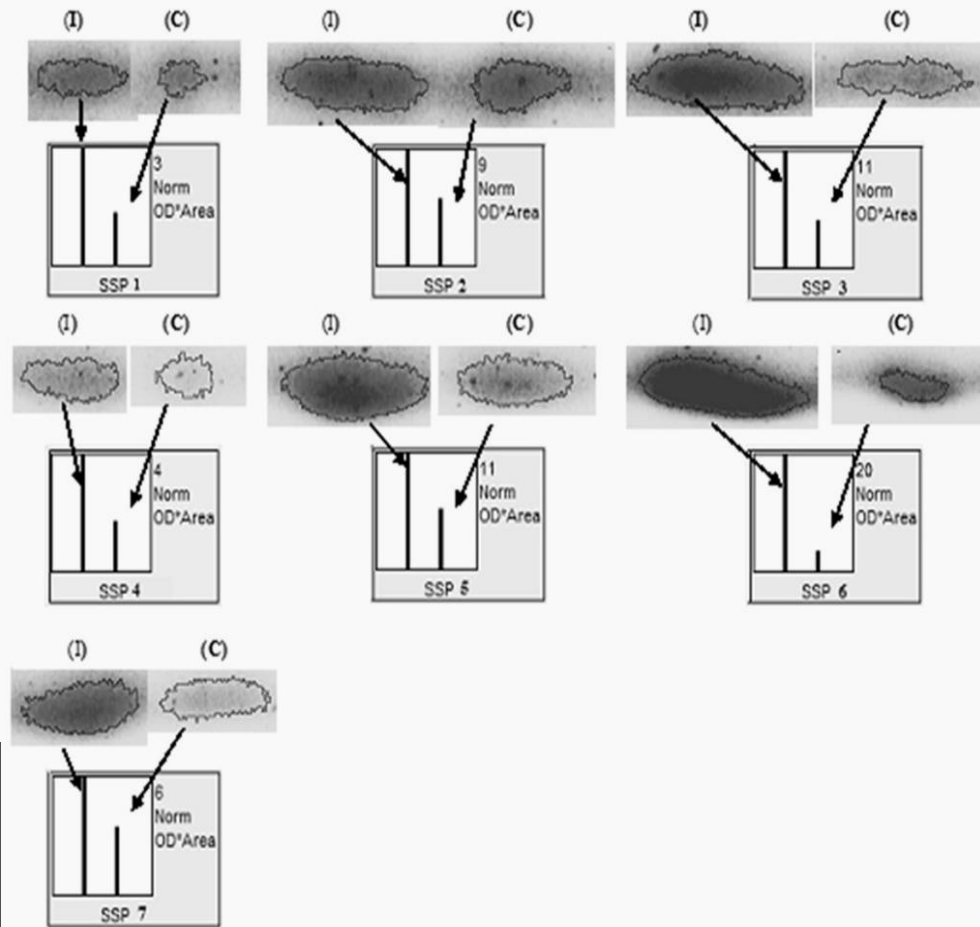


Vyhodnotenie proteomickej analýzy

kvantitatívna analýza – program Pdquest

hodnoty merané v jednotkách (OD*Area)
je signál intenzity jedného pixelu
a plocha predstavuje ohraničenú plochu
škvrny

pomeru proteínov potkana I/C určuje
o akú hodnotu sa zvýšilo alebo znížilo
množstvo proteínov vo vzorke



proteín	izoforma	neožirená	ožiarená	pomer (I / C)
		vzorka (C) (OD * Area)	vzorka (I) (OD * Area)	
Imunoglobulín gamma	1	1,54	3,44	2,23
	2	5,15	8,97	1,74
	3	4,62	11,33	2,45
	4	1,77	4,04	2,28
	5	5,48	10,60	1,93
	6	3,24	19,73	6,09
	7	3,77	6,49	1,72

vzrast Ig G približne dvojnásobný

Výsledky hematologických testov

	I	C
WBC ($\times 10^9/L$)	9,21	7,06
RBC ($\times 10^{12}/L$)	8,81	9,01
HGB (g/L)	159	156
HCT	0,468	0,459
MCV (fl)	53,1	50,9
MCH (pg)	18	17,3
MCHC (g/L)	340	340
PLT ($\times 10^9/L$)	836	985
RDW-SD (fl)	31	29,9
RDW-CV	0,184	0,189
PDW (fl)	8,5	8,6
MPV (fl)	7,7	7,8
P-LCR	0,066	0,073
PCT	0,0064	0,0076
Lymf ($\times 10^9/L$)	7,48	4,85
Neut ($\times 10^9/L$)	1,28	1,71
Baz ($\times 10^9/L$)	0,01	0,00
Mon ($\times 10^9/L$)	0,33	0,4
Eo ($\times 10^9/L$)	0,11	0,1

→ **Vzrast bielych krviniek 30 %**

→ Mierny nárast RBC

→ Mierny pokles hemoglobínu

RBC a HGB znamenajú, že nedošlo ku hemolýze krvi

→ Mierny pokles krvných doštičiek

→ **Vzrast lymfocytov o 54 %**

Vzrast leukocytov a lymfocytov súvisí s nárastom podpory prirodzených obranných mechanizmov organizmu

Celkové vyhodnotenie

- ▣ Pozorovali sme stimulačný vplyv nízko-intenzívneho lasera na imunitný systém potkanov spôsobený nárastom imunoglobulínu gamma v krvnej plazme a nárastom leukocytov vo vzorke krvi.
- ▣ Výsledky naznačujú, že využitie proteomických a hematologických metód má perspektívne a opodstatnené miesto vo výskume vplyvu nízko-intenzívneho lasera na organizmus.
- ▣ Štúdium zmien, ku ktorým dochádza pri aplikácii laserového žiarenia počas nízko-intenzívnej laserovej terapie, pomocou proteomických metód, pomôže pri hlbšom pochopení pôsobenia laserového žiarenia na organizmus.

Ďakujem za pozornosť