

ABSTRAKT

Cieľ práce: Oxidatívne poškodenie je jedným z najčastejších typov poškodenia bunkových komponent, ktorý vedie k oxidácii lipidov, proteínov ale aj molekúl DNA (deoxyribonukleová kyselina). V dôsledku toho dochádza k vyššiemu výskytu rôznych patológií ako sú ateroskleróza, neurodegeneratívne ochorenia, rakovina alebo diabetes. V našej štúdii sme sa zamerali na vplyv celkovej anestézie na poškodenie DNA počas menšej operácie s použitím techniky kométovej analýzy.

Metódy: Základným princípom tejto metódy je fixácia buniek (lymfocytov) v agaróze, ich lýza pre odstránenie membrán, inkubácia so špecifickými enzýmami a elektroforéza uvoľnených bunkových jadier. Počas elektroforézy sa voľné nízkomolekulárne a negatívne nabité fragmenty DNA pohybujú smerom k anóde, čo spôsobuje tvorbu typického kométového tvaru bunky. Na konci boli gély nafarbené etídiom bromidu (DNA interkalačná farbička) a vizualizované.

Výsledky: Skúmali sme jednoreťazcové zlomy a, s použitím modifikovanej metódy s využitím špecifických enzýmov na detekciu špecifických lézií, tiež oxidované puríny a pyrimidíny. Navýšenie DNA poškodenia, určené intenzitou chvosta kométy, bolo kvantifikované použitím LUCIA Comet Assay (Laboratory Imaging, Czech Republic) softvéru pre obrazovú analýzu.

Záver: Výsledky boli použité na porovnanie poškodenia DNA pred a po anestézii pacientov. Štatistické zhodnotenie bolo vykonané pomocou programu SigmaStat 3.5 (Systat Software, USA). Výsledky ukazujú štatisticky významné zvýšenie DNA poškodenia spôsobeného anestéziou počas menšej operácie.

Štúdia bola podporená MH CZ - DRO (UHHK, 00179906) a Oddelením pre vývoj a výskum, Fakultnej nemocnice Hradec Králové.

Kľúčové slová: comet assay, kometová analýza, anestézia, poškodenie DNA, reparácia