

Studium účinků rentgenového záření na erytrocyty

D. Kyselová

Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, Břehová 7, 11519 Praha 1

d.snecek@seznam.cz

Abstrakt

Ve svém experimentu jsem zjišťovala, jestli rentgenové záření porušuje plasmatickou membránu erytrocytů. Prokázat nebo vyvrátit jsem se to pokoušela vyšetřením, které se nazývá osmotická rezistence erytrocytů. Bohužel z výsledků se nepodařilo s určitostí nic říct. A proto bych chtěla v téhle práci dál pokračovat.

1 Úvod

Původně jsem chtěla zjistit, jestli při běžném vyšetření rentgenovým zářením v nemocnici se narušuje struktura plasmatické membrány erytrocytů. Pro vyšetření stavu plasmatické membrány jsem zvolila laboratorní metodu Osmotická rezistence erytrocytů, která se běžně používá v nemocničních zařízeních. Na konec jsem zjišťovala, jak se chovají vyšetřované vzorky při různé době ozáření rentgenovým zářením.

2 Princip Osmotické rezistence erytrocytů (ORE)

Odolnost erytrocytů vůči hypotonickým roztokům se vyšetřuje v hypotonických roztocích kuchyňské soli v rozpětí od 0,28 – 0,56% koncentrace. V hypotonickém prostředí přijímají erytrocyty vodu z vnějšího prostředí. Po dosažení kritického objemu dojde k porušení buněčné membrány a uvolnění hemoglobinu do vnějšího prostředí.

3 Potřeby

Pro svou práci jsem potřebovala z reagentů 1% roztok chloridu sodného, destilovanou vodu, fyziologický roztok (0,9 % NaCl). Z laboratorních pomůcek jsem používala aglutinační zkumavky, dělené skleněné pipety o objemu 1 ml, pasteurovu pipetu, aglutinační stojan. Pracovala jsem s žilní nesrážlivou čerstvou krví s protisrážlivým roztokem K₂ EDTA.

4 Postup

Hypotonické roztoky jsem připravila podle tabulky.

Tab. 1 Tabulka pro přípravu hypotonických roztoků

stoupající koncentrace po 0,02 %	1	2	3	4	5	6	7	8
1% NaCl v ml	0,28	0,30	0,32	0,34	0,36	0,38	0,40	0,42
destilovaná voda v ml	0,72	0,70	0,68	0,66	0,64	0,62	0,60	0,58
výsledná koncentrace v %	0,28	0,30	0,32	0,34	0,36	0,38	0,40	0,42

stoupající koncentrace po 0,02 %	9	10	11	12	13	14	15
1% NaCl v ml	0,44	0,46	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56
destilovaná voda v ml	0,56	0,54	0,52	0,50	0,48	0,46	0,44
výsledná koncentrace v %	0,44	0,46	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56

Pro pozitivní kontrolu se použije 1 ml destilované vody, dochází zde k úplné hemolýze. Pro negativní kontrolu se napipetuje do zkumavky 1 ml fyziologického roztoku, k hemolýze zde nedochází vůbec. Do připravených zkumavek s hypotonickými roztoky i do kontrol se kápne 1 kapka vyšetřované krve. Obsah zkumavek se musí dobře promíchat. Promíchané zkumavky se nechají stát 60 min. (popř. 30 min.) při pokojové teplotě. Po inkubaci se zkumavky centrifugují 5 min. při 1000-1500 otáček a pak se odečítá výsledek. Tento postup jsem použila u různých vzorků krve. Nejprve pro neozářenou krev, abych zjistila, jestli krvinky mají správnou funkci membrány. Pak jsem ozařovala krev Mo a Cu anodou a dokonce se mi podařilo ozářit vzorek krve rentgenem v nemocnici, jako při vyšetření bederní páteře. Výsledky jednotlivých vzorků jsem pak porovnávala mezi sebou a s fyziologickými hodnotami.

5 Hodnocení

V negativní kontrole nenastala hemolýza, krvinky tvoří souvislý sediment, ostře ohraničený od bezbarvého supernatantu. V pozitivní kontrole je úplná hemolýza, není pozorován žádný sediment erytrocytů, tekutina je červená. Ve vyšetřované řadě odčítáme minimální ORE a maximální ORE. Minimální ORE zjistíme tak, že odčítáme počátek hemolýzy, kdy supernatant začíná být zbarven bledě červeně a na dně zkumavky je sediment erytrocytů. Maximální ORE je udána koncentrací NaCl ve zkumavce, v níž došlo k úplné hemolýze a kde není sediment erytrocytů. Barva roztoku je zbarvena sytě červeně.

6 Fyziologické hodnoty

Minimální ORE se pohybuje v rozmezí 0,44-0,40% roztoku NaCl. A maximální ORE se pohybuje v rozmezí 0,32-0,30% roztoku NaCl.

7 Výsledky

Neozářený vzorek měl minimální ORE 0,46% NaCl a maximální ORE 0,30% NaCl. Ozářený vzorek Cu anodou po dobu 10s měl hodnotu minimální ORE 0,46% NaCl a hodnota maximální ORE byla 0,30% NaCl. U ozářeného vzorku Mo anodou na 10 min byla naměřená hodnota minimální ORE 0,44 % NaCl a hodnota maximální ORE 0,28% NaCl. Odečtené hodnoty u Ozářeného vzorku rentgenem v nemocnici jako bederní páteř byly u minimální ORE 0,44% NaCl a u maximální ORE 0,28% NaCl.

8 Závěr

Výsledky jsou orientační, neprokazují, že ozářené erytrocyty rentgenovým zářením se stávají více odolné vůči hypotonickým roztokům, než krvinky neozářené. Při realizaci experimentu

mohlo dojít k chybě v pipetování. Jednotlivé výsledky se sobě nápadně moc podobají. Proto by bylo dobré pokus znovu zopakovat.

9 Poděkování

Chtěla bych poděkovat všem za pomoc při realizaci mého experimentu a také za pomoc a kritiku při přípravě prezentace.

Reference

[1] L. Donner, Hematologie *Učebnice pro zdravotnické školy, obor pro zdravotní laboranty*. Praha: SPN, 1956.

[2] H. Kolářová, J. Rosina, J. Stanek, *Biofyzika pro studenty zdravotnických oborů*. Grada Publishing a.s., 2006. ISBN 8024713837