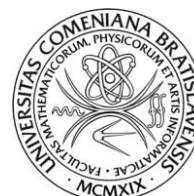




Univerzita Komenského v Bratislave

Fakulta matematiky, fyziky a informatiky



Mgr. Marcela Morvová, Jr.

Autoreferát dizertačnej práce

Štúdium vybraných charakteristík membrány erytrocytov zmenených chronickým ochorením obličiek

na získanie akademického titulu philosophiae doctor

v odbore doktorandského štúdia:

4.1.12. Biofyzika

Bratislava, 2015

Dizertačná práca bola vypracovaná v dennej forme doktorandského štúdia na Katedre jadrovej fyziky a biofyziky Fakulty matematiky, fyziky a informatiky Univerzity Komenského v Bratislave.

Predkladateľ: Mgr. Marcela Morvová, Jr.
Katedra jadrovej fyziky a biofyziky
Fakulta matematiky fyziky a informatiky
Univerzita Komenského
Mlynská dolina
842 48 Bratislava

Školiteľ: prof. RNDr. Libuša Šikurová, PhD.
Katedra jadrovej fyziky a biofyziky
Fakulta matematiky fyziky a informatiky
Univerzita Komenského
Mlynská dolina
842 48 Bratislava

Oponenti: Prof. Ing. Zdeňka Ďuračková, PhD.
Ústav lekárskej chémie, biochémie a klinickej biochémie
Lekárka fakulta
Univerzita Komenského
Sasinkova 2
811 08 Bratislava

Prof. MUDr. Ján Jakuš, DrSc.
Ústav lekárskej biofyziky
Jesseniova lekárska fakulta
Univerzita Komenského
Malá Hora 4
036 01 Martin

RNDr. Karol Ondriáš, DrSc.
Ústav molekulárnej fyziológie a genetiky
Slovenská akadémia vied
Vlárska 5
Bratislava, 833 34

Obhajoba dizertačnej práce sa koná o h

**pred komisiou pre obhajobu dizertačnej práce v odbore doktorandského štúdia vymenovanou
predsedom odborovej komisie**

(uviesť dátum vymenovania)

študijný odbor: 4.1.12. Biofyzika

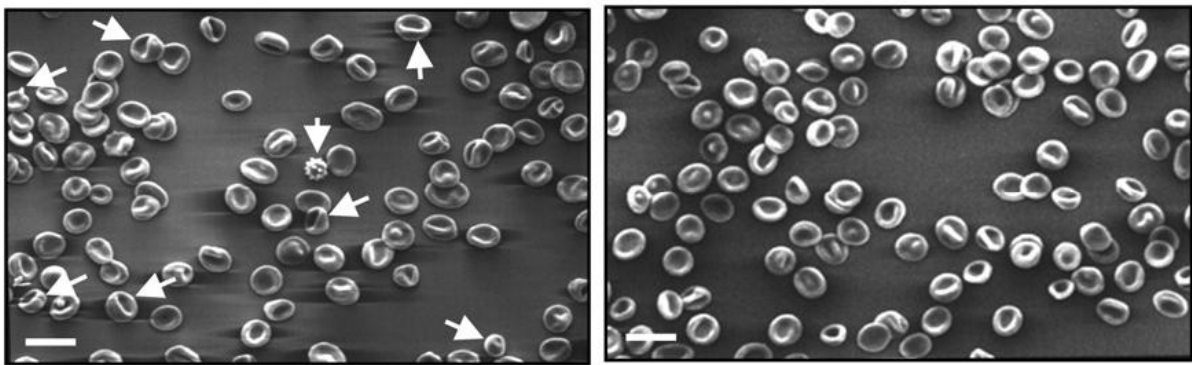
na
(presná adresa miesta konania obhajoby dizertačnej práce)

Predseda odborovej komisie:

.....
prof. RNDr. Tibor Hianik, DrSc.
Katedra jadrovej fyziky a biofyziky
Fakulta matematiky, fyziky a informatiky
Mlynská dolina, 842 48 Bratislava

Súčasný stav problematiky

Chronické ochorenie obličiek (CKD) je patologický stav s heterogénnymi príznakmi, ktorý vedie k zlyhaniu obličiek a spája sa s radom komplexných nežiaducich zmien vo fyziologických a metabolických funkciách. Pretože väčšina ochorení začína na bunkovej úrovni, štúdium bunky a jej jednotlivých súčastí je zásadným krokom pre správne pochopenie ochorenia vo vzťahu k jeho priebehu a liečbe. Aj chronické ochorenie obličiek vyúsťuje do zmien na bunkovej a subbunkovej úrovni. Dochádza k zmenám v membráne erytrocytu a objavuje sa agregácia a deformovanosť erytrocytov (Sakthivel et al. 2007; Antonelou et al. 2014). U erytrocytov pacientov podstupujúcich dialýzu (Obr. č. 1) sa objavujú stomatocyty a ďalšie transformácie (ako napr. sférocyty alebo echinocyty).



Obr. č. 1 Snímok zo skenovacej elektrónovej mikroskopie zobrazujúci morfológiu erytrocytov u pacientov s CKD podstupujúcich dialýzu. Snímok pacienta pred dialýzou vľavo a snímok zdravého dobrovoľníka vpravo (Antonelou et al. 2014). Šípky znázorňujú stomatocyty a ďalšie transformácie erytrocytov. Dĺžka zobrazenej úsečky 10 μm .

V literatúre je dobre zdokumentovaná neregulovaná akumulácia voľného intracelulárneho vápnika ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) v erytrocytoch pri chronickom ochorení obličiek (Zidek et al. 1992; Corry et al. 1996; Polak-Jonkisz et al. 2007), ktorá má pravdepodobne za následok redukcii membránovej deformability erytrocytov (Gafter et al. 1989). Abnormalita v transporte Ca^{2+} môže byť spôsobená defektom na rôznej úrovni bunkového metabolizmu vápnika: zmenou funkčnosti vápnikových a kationových kanálov, zmenou ich expresie, zmenou aktivity Ca^{2+} -pumpy. U erytrocytov je odstraňovanie vápnika z bunky do extracelulárneho priestoru sprostredkované Ca^{2+} -ATPázou plazmatickej membrány (PMCA). Znížená aktivita Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány už bola pozorovaná u dialyzovaných pacientov a pacientov v terminálnych štádiách obličkového ochorenia

(Nieman et al. 1983; Gafter et al. 1989; Corry et al. 1996; Polak-Jonkisz et al. 2010). Informácie o redukcii aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov v skorých štádiách chronického ochorenia obličiek boli publikované zatiaľ len pre detských pacientov (Polak-Jonkisz et al. 2007). To nás viedlo k rozhodnutiu sledovať aktivitu Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov u dospelých pacientov v rôznych štádiách chronického ochorenia obličiek.

Pri chronickom ochorení obličiek sú však zdokumentované viaceré defekty v transmembránovom kationovom transporte (Corry et al. 1996). Znížený intracelulárny obsah draslíka a sodíka v erytrocytoch, ktorý sa objavuje pri urémii, sa prisudzuje zníženiu aktivity Na^+/K^+ -ATPázy (Kimmel a Rosenberg 2014). V literatúre nie sú informácie o aktivite Na^+/K^+ -ATPázy jednotné a obmedzujú sa na pacientov vo vyšších štádiách ochorenia, resp. na dialyzovaných, či uremických pacientov. Objavujú sa práce, kde nezistili zmenu v aktivite Na^+/K^+ -ATPázy erytrocytov u chronického obličkového zlyhania v porovnaní so zdravou kontrolou (Corry et al. 1996; Ogasawara a Nishikawa 1993). Tiež sú však publikované práce, kde pozorovali zníženie aktivity Na^+/K^+ -ATPázy erytrocytov u nešpecifikovaných pacientov s chronickým ochorením obličiek (Cole 1973), u dialyzovaných pacientov (Kolmakova et al. 2011) a tiež u pacientov s chronickým obličkovým zlyhaním (Solski et al. 1991) oproti zdravej kontrolnej skupine. Tieto výsledky nás viedli k rozhodnutiu sledovať aj aktivitu Na^+/K^+ -ATPázy v erytrocytoch.

Výskumy posledných rokov ukazujú stále narastajúci záujem o vitamín D, ktorého deficiencia sa vyskytuje pri chronickom ochorení obličiek a je spájaná so zmenami v kostnom metabolizme a metabolizme minerálov (Alvarez et al. 2012). Z toho dôvodu KDOQI odporúča suplementáciu vitamínom D (ergokalciferolom alebo cholekalciferolom) už v 3. štádiu chronického ochorenia obličiek (KDOQI 2002). Hormón $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ generuje biologické odozvy prostredníctvom oboch genomových aj negenomových mechanizmov (Norman 1997). Sledovali sme negenomický účinok $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na izolované membrány erytrocytov, a tiež účinok suplementácie cholekalciferolom u pacientov s chronickým ochorením obličiek.

Ciele

Cieľom predkladanej dizertačnej práce je štúdium možných zmien v membránach erytrocytov indukovaných chronickým ochorením obličiek (CKD), najmä pre skoré štádia (2. – 3.) CKD.

Práca bola zameraná na určenie:

- Zmien aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) erytrocytov u pacientov s chronickým ochorením obličiek v 2. - 3. štádiu a pacientov s chronickým ochorením obličiek v 4. - 5. štádiu v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi.
- Zmien aktivity Na^+/K^+ -ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov u pacientov s chronickým ochorením obličiek v 2. - 3. štádiu a pacientov s chronickým ochorením obličiek v 4. - 5. štádiu v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi.
- Účinku $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na aktivitu Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov pacientov s chronickým ochorením obličiek a tiež u zdravých dobrovoľníkov.
- Účinku suplementácie cholekalciferolom na aktivitu Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov pacientov s chronickým ochorením obličiek.
- Zmien v bunkovej membráne erytrocytu indukovaných suplementáciou cholekalciferolom pri chronickom ochorení obličiek, a to celkového množstva membránových bielkovín, stupňa peroxidácie membránových lipidov a membránovej fluidity.

Metódy riešenia

Chronické ochorenie obličiek (CKD) bolo definované ako prítomnosť poškodenia obličiek a/alebo zníženie glomerulárnej filtrácie (GFR) podľa K/DOQI kritérií (KDOQI 2002). Všetci pacienti boli ambulantne sledovaní v Nefrologickej ambulancii Polikliniky Slovenskej zdravotníckej univerzity (SZU) v Bratislave. Dobrovoľníkom boli vykonané biochemické a fyzikálne vyšetrenia, ak výsledky vyšetrení boli v referenčnom rozsahu a nebolo zistené žiadne ochorenie, boli zaradení do štúdie ako zdraví dobrovoľníci (ZD). Protokoly boli odsúhlasené Etickou komisiou Slovenskej zdravotníckej univerzity a pacienti ako aj zdraví dobrovoľníci podpísali Informovaný súhlas.

Pacientom aj zdravým dobrovoľníkom bola ráno nalačno v deň merania odobraná krv do skúmaviek s heparínom (7,5 mL) a boli im zmerané biochemické parametre krvi. Po odobratí bola metódou hustotného gradientu separovaná masa erytrocytov. Z masy erytrocytov boli izolované membrány erytrocytov metódou Hanahana a Ekholmovej

(Hanahan a Ekholm 1974). Obsah bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov bol stanovený spektrofotometricky štandardnou Lowryho metódou (Lowry et al. 1951) s využitím Folinového činidla a kalibráciou s BSA (bovine serum albumin). Koncentrácia malóndialdehydu c(MDA) bola stanovená TBARS (tiobarbituric acid reactive substances) testom meraním absorpcie pri 532 nm.

Merania aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) ako aj aktivity Na^+/K^+ -ATPázy sú založené na princípe aktívneho transportu, kde sa pri prechode iónov vápnika membránou mení konformácia enzýmu a dochádza k hydrolyze ATP na ADP a anorganický fosfát (P_i). Takto vzniknutý anorganický fosfát je možné detegovať UV-VIS absorpčnou spektroskopiou (Fiske a Subbarow 1925) s využitím komerčného fosfátového kitu (Phosphate Colorimetric Assay Kit). Kit je zložený z malachitovej zelene a molybdénu amónneho tvoriacich chromogénny komplex s iónmi fosfátu a poskytujúcich intenzívny absorpčný pás s maximom pri vlnovej dĺžke 650 nm. Analýzy boli vykonané v deň odberu vzorky a absorpčné spektrá boli snímané na UV-VIS spektrofotometri Shimadzu UV-1700.

Stacionárna anizotropia fluorescencie fluorescenčnej sondy DPH (1,6-difenyl-1,3,5-hexatrién), bola využitá ako indikátor štruktúrneho usporiadania hydrofóbného vnútra membrány, čo je inverzne proporcionálne membránovej fluidite (Shinitzky a Barenholz 1978). Excitačná vlnová dĺžka pri našom meraní bola nastavená na 360 nm (sonda pri nej dosahuje absorpčné maximum) a emisná vlnová dĺžka bola 430 nm (maximum fluorescencie).

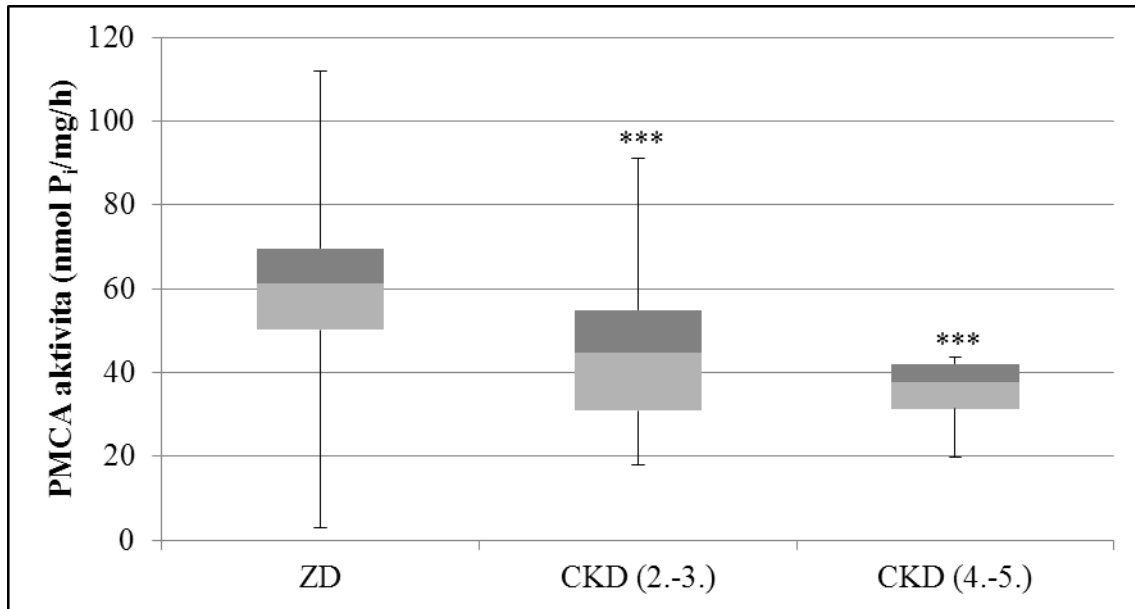
Výsledky a diskusia

Zmeny v membráne erytrocytov vyvolané chronickým ochorením obličiek

Aktivita Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov

Pri chronickom ochorení obličiek (CKD) bola aktivita Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) sledovaná ako jeden z potenciálnych mechanizmov zodpovedných za zvýšenie voľného intracelulárneho vápnika ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) u týchto pacientov. Analýzou medziskupinových rozdielov (Kruskal-Wallisov test s hladinou významnosti $\alpha = 0,01$) sme zistili signifikantný pokles v aktivite Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov u pacientov s CKD v 2. - 3. štádiu oproti skupine zdravých dobrovoľníkov (Graf č. 1), pričom práve tieto informácie pre dospelých pacientov neboli v literatúre prezentované a prvýkrát boli v kontexte širších výsledkov publikované našou skupinou (Kaderjakova et al. 2012;

Morvová et al. 2014). Tiež sme zistili signifikantný pokles ($P < 0,0001$) v aktivite Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) erytrocytov u pacientov s CKD v 4. - 5. štádiu oproti skupine zdravých dobrovoľníkov, čo je v zhode s informáciami v literatúre (Nieman et al. 1983; Gafter et al. 1989; Corry et al. 1996).



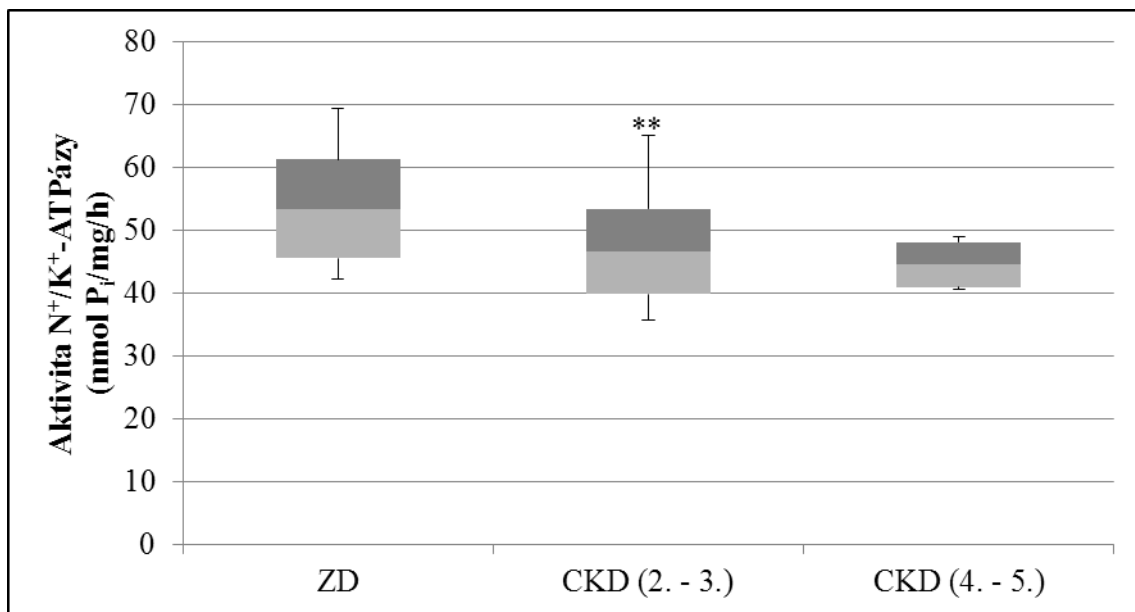
Graf č. 1 Škatuľový graf (box plot) porovnávajúci aktivitu Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) ($\text{nmol P}_i/\text{mg/h}$) erytrocytov pre skupiny: zdravých dobrovoľníkov (ZD) ($n = 55$), pacientov s chronickým ochorením obličiek (CKD) v 2. - 3. štádiu ($n = 51$) a pacientov s CKD v 4. - 5. štádiu ($n = 11$), s vyznačeným mediánom, horným a dolným kvartilom a s minimom, maximom. *** - $P < 0,0001$ pre porovnanie skupiny pacientov s CKD so skupinou zdravých dobrovoľníkov.

Či došlo k inhibícii aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány, zníženiu počtu molekúl Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány, k zmenám v integrite samotného proteínu, alebo redukcia aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány nastala vplyvom okolia, t.j. membrány erytrocytu, ostáva otázkou ďalšieho výskumu.

Aktivita Na^+/K^+ -ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov

Pri chronickom ochorení obličiek (CKD) sa ukazuje, že obličky si dlho udržujú schopnosť udržať homeostázu sodíka a draslíka a ich normálne sérové hladiny (Kimmel a Rosenberg 2014). Avšak vo vyšších štádiách ochorenia sú už zaznamenané ich zmeny. Tieto zmeny sa u erytrocytov pre pacientov s CKD vo vyšších štádiách pripisujú zníženiu aktivity Na^+/K^+ -ATPázy (Welt et al. 1964; Kaji a Kahn 1987; Cheng et al. 1984; Solski et al. 1991; Kimmel a Rosenberg 2014). Analýzou medziskupinových rozdielov (ANOVA s Tukey-Kramerovým testom na hladine významnosti $\alpha = 0,01$) sme zistili signifikantný

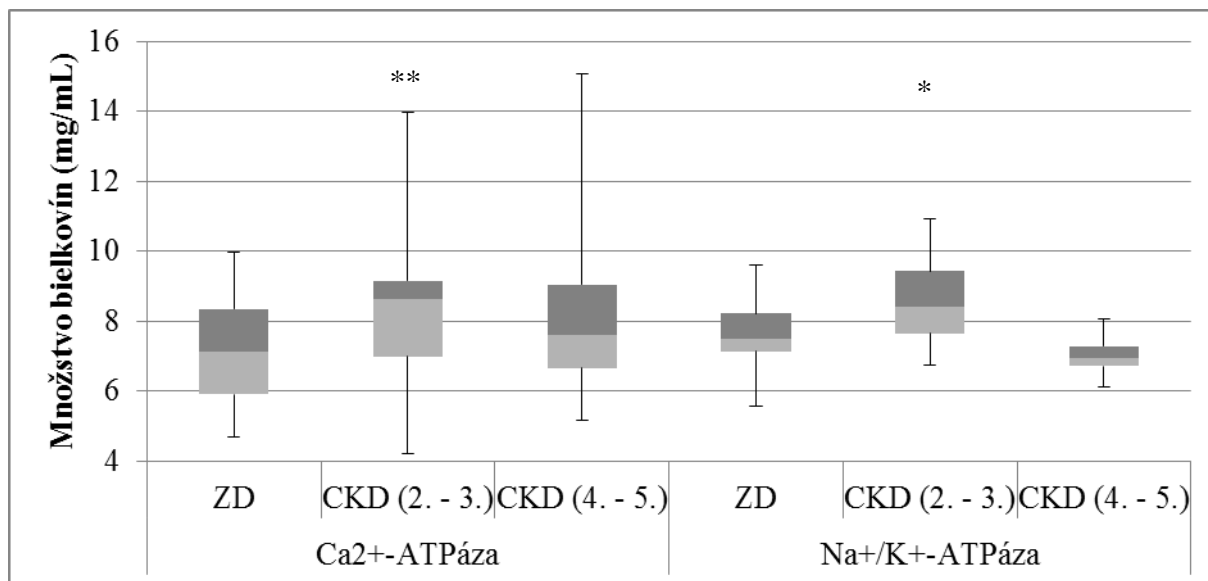
pokles ($P = 0,0071$) v aktivite Na^+/K^+ -ATPázy membrány erytrocytov u pacientov s CKD v 2. - 3. štádiu oproti skupine zdravých dobrovoľníkov, ktorý v literatúre dosiaľ nebol publikovaný. Informácie pre CKD 4. - 5. štádium sú obmedzené nízkym počtom pacientov v skupine. Perspektívne plánujeme rozšíriť skupinu pacientov v 4. - 5. štádiu CKD, aby sme vedeli zhodnotiť, či sa pokles aktivity Na^+/K^+ -ATPázy prehĺbuje s progresom ochorenia.



Graf č. 2 Škatuľový graf (box plot) porovnávajúci hodnoty aktivity Na^+/K^+ -ATPázy membrán erytrocytov (nmol P/mg/h) pre skupinu zdravých dobrovoľníkov (ZD) ($n = 23$) a skupinu pacientov s chronickým ochorením obličiek (CKD) v 2. - 3. štádiu ($n = 22$) a skupinu CKD pacientov v 4. - 5. štádiu ($n = 4$). S vyznačenou strednou hodnotou, smerodajnou odchýlkou a minimom a maximom. ** - $P < 0,01$ pre porovnanie skupiny pacientov s CKD so skupinou zdravých dobrovoľníkov.

Celkové množstvo bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov

Analýzou medziskupinových rozdielov sme zistili signifikantný nárast v celkovom množstve bielkovín izolovaných membránach erytrocytov (Graf č. 3) pacientov s chronickým ochorením obličiek (CKD) v 2. - 3. štádiu oproti kontrolnej skupine zdravých dobrovoľníkov, pri metóde izolácie membrán erytrocytov pre meranie aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány (Kruskal-Wallisov test na hladine významnosti $\alpha = 0,01$), ako aj pri metóde izolácie membrán erytrocytov pre meranie aktivity Na^+/K^+ -ATPázy (ANOVA s Tukey-Kramerovým testom na hladine významnosti $\alpha = 0,01$).



Graf č. 3 Škatuľový graf (box plot) porovnávajúci celkové množstvo bielkovín (mg/mL) izolovaných membrán erytrocytov (izolácia membrán erytrocytov pre meranie aktivity Ca^{2+} -ATPázy v ľavo - označovaná s indexom 1 a pre meranie aktivity $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -ATPázy v pravo – označovaná s indexom 2) pre skupiny: zdravých dobrovoľníkov (ZD) ($n_1 = 55$; $n_2 = 23$), pacientov s chronickým ochorením obličiek (CKD) v 2. - 3. štádiu ($n_1 = 51$; $n_2 = 22$) a pacientov s CKD v 4. - 5. štádiu ($n_1 = 11$; $n_2 = 4$). S vyznačeným mediánom, horným a dolným kvartilom a s minimom, maximom. * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,005$ pre porovnanie skupiny pacientov s CKD so skupinou zdravých dobrovoľníkov.

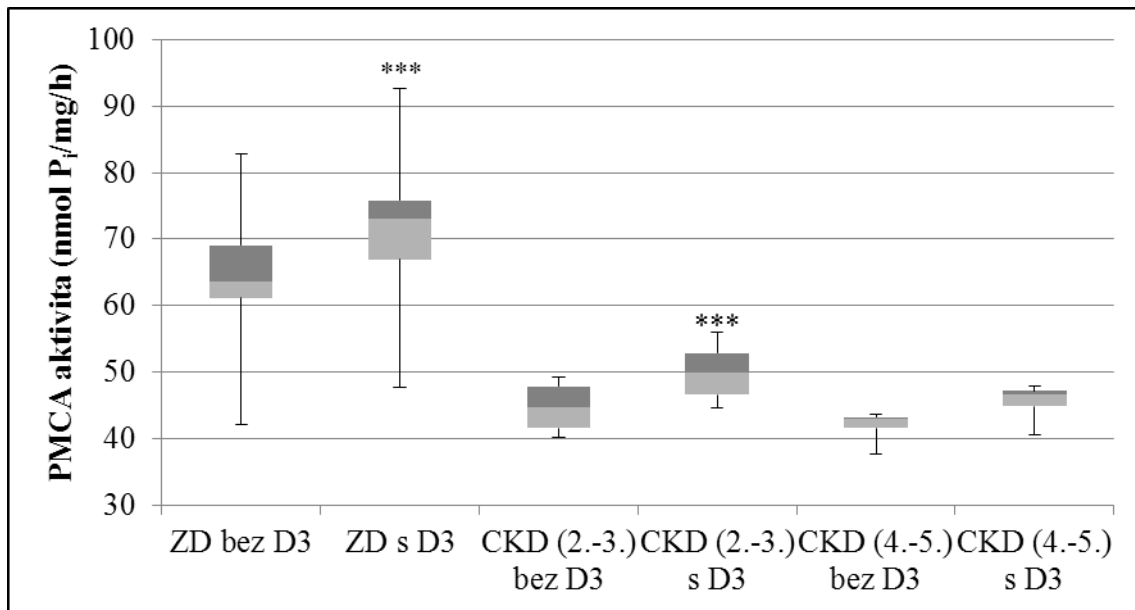
Zistené zvýšenie celkového množstva bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov pri CKD bolo prvýkrát namerané nami v tejto práci a bolo publikované (Lajdova et al. 2015). V literatúre bola zaznamenaná proteínová variabilita v membráne erytrocytu u dialyzovaných pacientov v porovnaní s kontrolnou skupinou (Costa et al. 2008; Antonelou et al. 2014). Costa et al. (2008a) uviedol, že pri dialyzovaných pacientoch dochádzalo k zmene v membránových proteínoch, zdá sa, že vplyvom samotného ochorenia a/alebo vplyvom dialýzy. Naše výsledky však ukazujú, že k určitým zmenám v obsahu proteínov membrány erytrocytov dochádza už v skorých štádiách CKD, kedy pacienti nepodstupovali dialýzu, ich konkrétny charakter však ostáva zaujímavou otázkou budúceho výskumu.

Efekt vitamínu D na membrány erytrocytov

Alvarez et al. uvádza (Alvarez et al. 2012), že v skorých štádiách CKD sa objavuje niekoľko zdravotných komplikácií a komorbíd, ktoré sa spájajú s deficienciou vitamínu D (Shroff et al. 2012), ktorá má u CKD pacientov vysokú prevalenciu (LaClair et al. 2005). Práve preto sa v usmerneniach K/DOQI pri CKD odporúča suplementácia vitamínom D (ergokalciferolom alebo cholekalciferolom) (KDOQI 2002).

Efekt 1,25(OH)₂D₃ na izolované membrány erytrocytov

Izolované membrány erytrocytov boli 20 minút inkubované s 1,25(OH)₂D₃. Následne boli získané parametre porovnané s dátami získanými bez aplikácie 1,25(OH)₂D₃. Zistili sme významný nárast o 12% (párový t test, P < 0,0001) v aktivite Ca²⁺-ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) erytrocytov u zdravých dobrovoľníkov ako aj u pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek (CKD) po aplikácii 1,25(OH)₂D₃. Informácie pre CKD 4. - 5. štádium sú obmedzené nízkym počtom vzoriek v skupine (Graf č. 4).

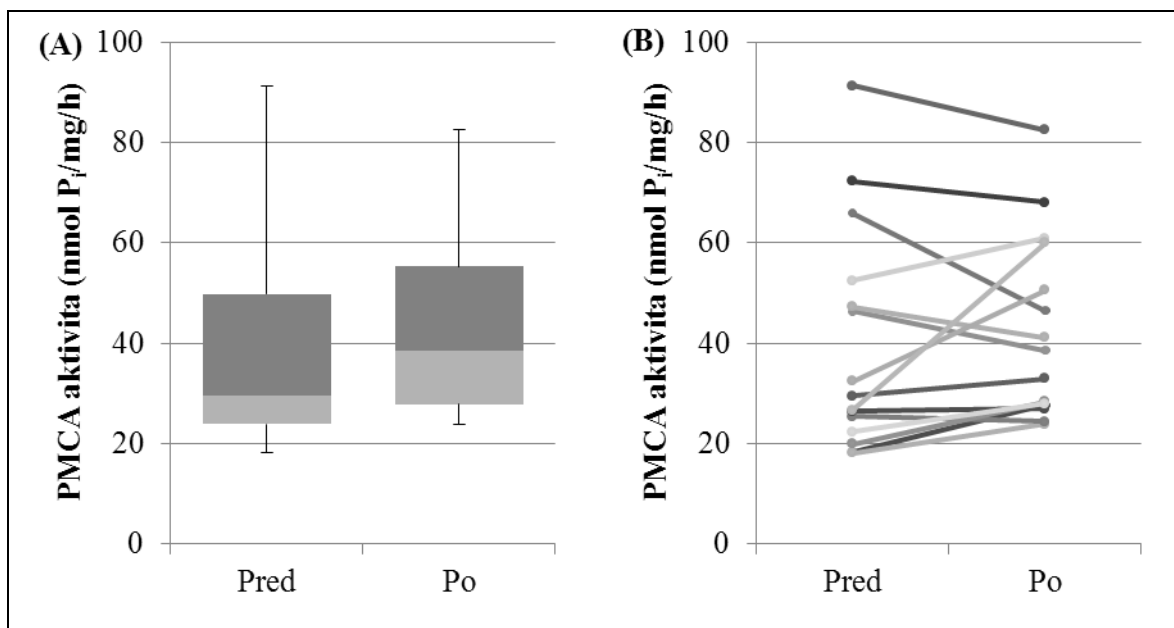


Graf č. 4 Škatuľový graf (box plot) porovnávajúci aktivitu Ca²⁺-ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) erytrocytov (nmol P_i/mg/h) pre skupiny: zdravých dobrovoľníkov (ZD) (n = 22), pacientov s chronickým ochorením obličiek (CKD) v 2. - 3. štádiu (n = 7) a pacientov s CKD v 4. - 5. štádiu (n = 4) bez a s aplikáciou 1,25(OH)₂D₃ (D₃). S vyznačeným mediánom, horným a dolným kvartilom a s minimum, maximum. *** - P < 0,0001

Výsledky našich experimentov ukazujú, že medzi negenomové účinky 1,25(OH)₂D₃ patrí aj zvýšenie aktivity Ca²⁺-ATPázy plazmatickej membrány erytrocytov, čo dosiaľ nebolo publikované. Navyše izolované membrány erytrocytov zdravých dobrovoľníkov aj pacientov s CKD v 2. - 3. štádiu vykazovali takmer rovnaké percentuálne zvýšenie (12%) aktivity Ca²⁺-ATPázy plazmatickej membrány vplyvom 1,25(OH)₂D₃. To znamená, že 1,25(OH)₂D₃ má stimulačný účinok na aktivitu Ca²⁺-ATPázy plazmatickej membrány. U CKD pacientov ide o benefičný účinok nakoľko aktivita Ca²⁺-ATPázy plazmatickej membrány je u CKD pacientov znížená. Dosiaľ v literatúre podobné údaje neexistujú.

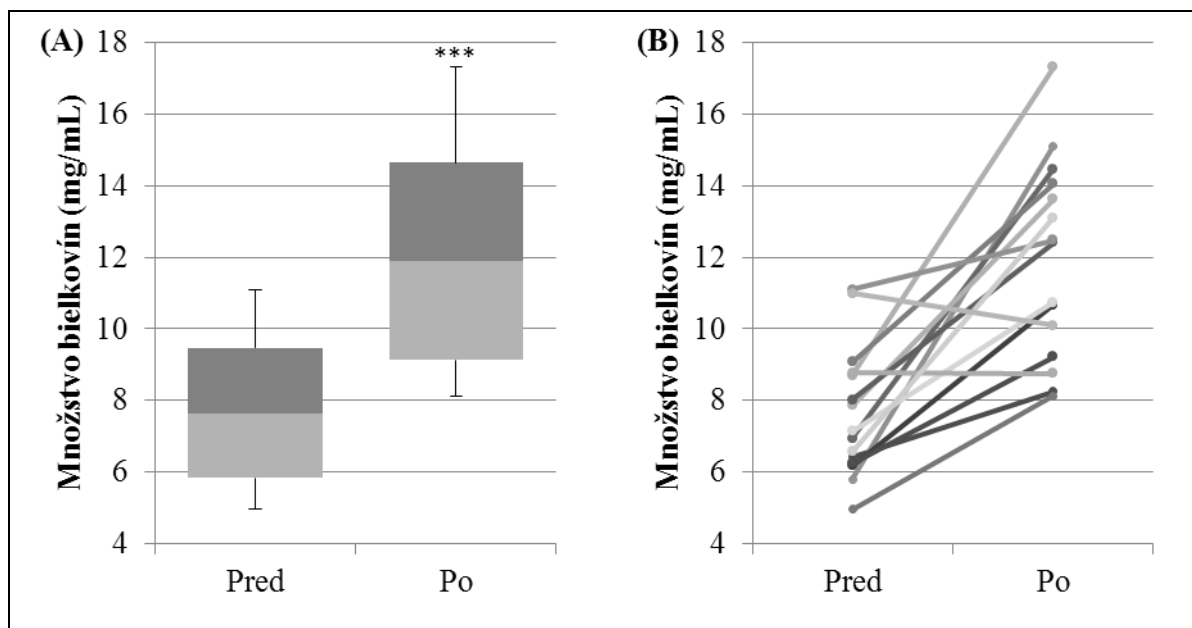
Efekt cholekalciferolu

Účinok cholekalciferolu na vybrané membránové vlastnosti bol sledovaný na erytrocytových membránach pacientov s chronickým ochorením obličiek (CKD) v 2. - 3. štádiu ($n = 15$). Pacienti užívali cholekalciferol (Vigantol, Merck KGaA, Nemecko) vo forme kvapiek, 14000 IU/týždeň po dobu 6 mesiacov v dávke 2000 IU/denne. Po suplementácii cholekalciferolom (Graf č. 5) sme nezistili signifikantný rozdiel (Wilcoxonov párový test, $P = 0,4543$) v aktivite Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány. Tieto výsledky boli publikované našou skupinou v kontexte širšieho výskumu (Morvová et al. 2014; Lajdova et al. 2015).



Graf č. 5 (A) Škatuľový graf (box plot) porovnávajúci aktivitu Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány (PMCA) erytrocytov (nmol P_i /mg/h) pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek (CKD) pred a po suplementácii cholekalciferolom ($n = 15$). S vyznačeným mediánom, horným a dolným kvartilom a minimom, maximom. (B) Priečkový graf (tzv. ladder plot) znázorňujúci efekt suplementácie cholekalciferolom na namerané hodnoty PMCA aktivity (nmol P_i /mg/h).

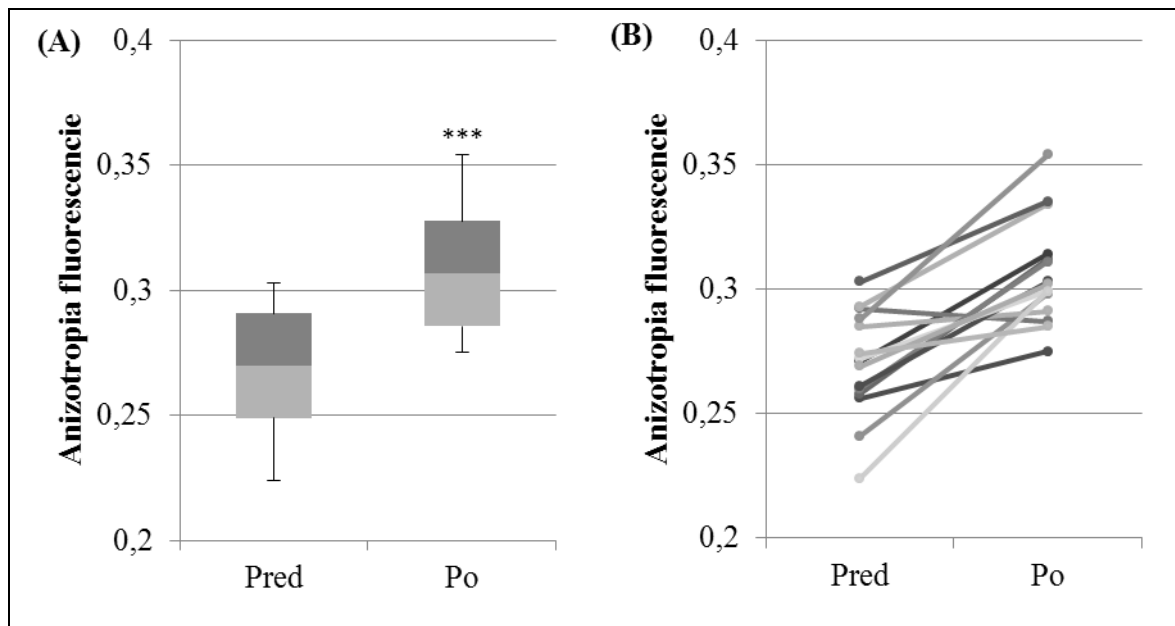
Po suplementácii cholekalciferolom (Graf č. 6) sme však zistili signifikantný nárast (párový t test, $P < 0,0001$) v celkovom množstve bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov.



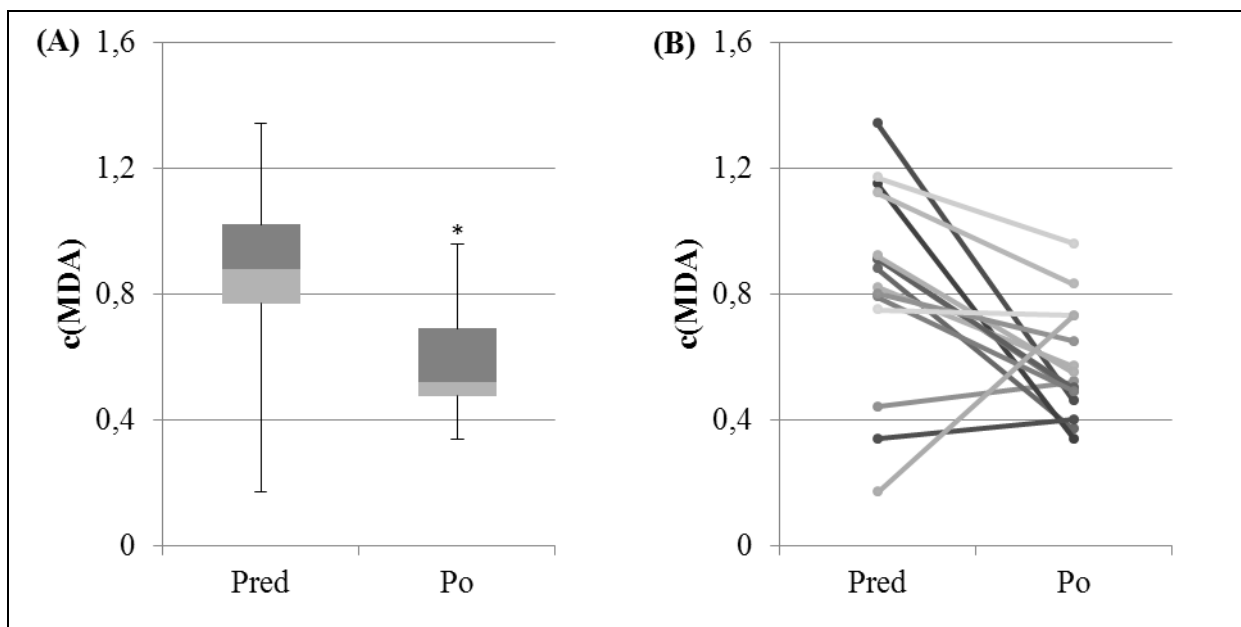
Graf č. 6 Škatuľový graf (box plot) porovnávajúci celkové množstvo bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov (mg/mL) pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek pred a po suplementácii cholekalciferolom ($n = 15$). S vyznačeným strednej hodnoty, smerodajnej odchýlky a minimom, maximom. *** - $P < 0,0001$ (B) Priečkový graf (tzv. ladder plot) znázorňujúci efekt suplementácie cholekalciferolom na namerané hodnoty celkového množstva bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov (mg/mL).

Membránové proteíny môžu ovplyvňovať pohyblivosť lipidových molekúl v membránach (Aloia a Boggs 2013). Membránová fluidita bola ohodnotená anizotropiou fluorescencie sondy DPH (1,6-difenyl-1,3,5-hexatrién) izolovaných membrán erytrocytov. Po suplementácii cholekalciferolom (Graf č. 7) sme zistili signifikantné zvýšenie (párový t test, $P < 0,0001$) anizotropie fluorescencie sondy DPH, čo vypovedá o zníženej pohyblivosti hydrofóbných častí fosfolipidových molekúl membrány (poklese membránovej fluidity).

V literatúre sa ďalej uvádza, že zníženie membránovej fluidity môže byť modulované peroxidáciou membránových lipidov (Cazzola et al. 2004), ale naše výsledky ukázali, že u pacientov v 2. – 3. štádiu CKD nebolo zníženie fluidity membrán erytrocytov podporené zvýšením peroxidácie membránových lipidov a po suplementácii cholekalciferolom (Graf č. 8) sme naopak zistili signifikantný pokles (párový t test, $P = 0,013$) koncentrácie malóndialdehydu (sekundárneho produktu peroxidácie membránových lipidov) v izolovaných membránach erytrocytov. Z uvedeného vyplýva, že suplementácia cholekalciferolom znížila procesy peroxidácie, a teda mala antioxidantné účinky.



Graf č. 7 Škatuľový graf (box plot) porovnávajúci anizotropiu fluorescencie sondy DPH v izolovaných membránach erytrocytov pre pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek (CKD) pred a po suplementácii cholekalciferolom ($n = 15$), s vyznačeným strednej hodnoty, smerodajnej odchýlky a minima, maxima. *** - $P < 0,0001$ (B) Priečkový graf (tzv. ladder plot) znázorňujúci efekt suplementácie cholekalciferolom na namerané hodnoty anizotropie fluorescencie sondy DPH v izolovaných membránach erytrocytov pre pacientov v 2. - 3. štádiu CKD.



Graf č. 8 Škatuľový graf (box plot) porovnávajúci koncentráciu malóndialdehydu c(MDA) v membránach erytrocytov pre pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek pred a po suplementácii cholekalciferolom ($n = 15$). S vyznačeným strednej hodnoty, smerodajnej odchýlky a minimom, maximom. * - $P < 0,05$ (B) Priečkový graf (tzv. ladder plot) znázorňujúci efekt suplementácie cholekalciferolom na namerané hodnoty koncentrácie malóndialdehydu c(MDA).

Záver

Predložená práca sa zamerala na zisťovanie zmien v membránach erytrocytov vyvolaných chronickým ochorením obličiek a zmien v membránach erytrocytov indukovaných inkubáciou $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ s izolovanými membránami erytrocytov a indukovaných suplementáciou cholekalciferolom. Experimentálne boli v práci určené:

A) Zmeny v membráne erytrocytov vyvolané chronickým ochorením obličiek:

1. a) Zníženie aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány izolovaných membrán erytrocytov pre dospelých pacientov v 2. – 3. štádiu chronického ochorenia obličiek o 26% v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi.
- b) Zníženie aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány izolovaných membrán erytrocytov pre dospelých pacientov v 4. - 5. štádiu chronického ochorenia obličiek o 42% v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi.
- c) Zvýšenie celkového množstva bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov pre dospelých pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek o 18% v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi. V ďalšom výskume plánujeme sledovať aj expresiu Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány.
2. a) Zníženie aktivity Na^+/K^+ -ATPázy izolovaných membrán erytrocytov pre dospelých pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek o 13% v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi.
- b) Zvýšenie celkového množstva bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov o 11% u dospelých pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek v porovnaní so zdravými dobrovoľníkmi. V ďalšom výskume by bolo vhodné sledovať aj expresiu Na^+/K^+ -ATPázy.

B) Efekt vitamínu D na membrány erytrocytov:

1. Inkubácia $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ s izolovanými membránami erytrocytov spôsobila:

- a) Zvýšenie aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány izolovaných membrán erytrocytov zdravých dobrovoľníkov o 12% v porovnaní s hodnotou bez aplikácie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.
- b) Zvýšenie aktivity Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány izolovaných membrán erytrocytov pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek o 12% v porovnaní s hodnotou bez aplikácie $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

2. Suplementácie cholekalciferolom u pacientov v 2. - 3. štádiu chronického ochorenia obličiek:
- a) Nespôsobila žiadnu zmenu v aktivite Ca^{2+} -ATPázy plazmatickej membrány izolovaných membrán erytrocytov v porovnaní s hodnotou pred suplementáciou cholekalciferolom.
 - b) Spôsobila zvýšenie celkových membránových bielkovín v izolovaných membránach erytrocytov po suplementácii cholekalciferolom o 55% v porovnaní s hodnotami pred suplementáciou cholekalciferolom. V ďalšom výskume je vhodné určiť, ktoré bielkoviny sa menia.
 - c) Spôsobila zvýšenie anizotropie fluorescencie sondy DPH (1,6-difenyl-1,3,5-hexatrién) inkorporovanej do izolovaných membrán erytrocytov (zníženie fluidity membrán) po suplementácii cholekalciferolom v porovnaní s hodnotami pred suplementáciou cholekalciferolom. V ďalšom výskume by bolo zaujímavé sledovať zmeny v lipidovom zložení vplyvom suplementácie cholekalciferolom.
 - d) Spôsobila zníženie koncentrácie malón dialdehydu v izolovaných membránach erytrocytov po suplementácii cholekalciferolom v porovnaní s hodnotami pred suplementáciou, odpovedajúce zníženiu peroxidácie membránových lipidov.

Získané výsledky prispeli k rozšíreniu vedomostí o chronickom ochorení obličiek, najmä v skorých štádiách ochorenia a priniesla nové perspektívne otázky pre ďalší výskum.

Summary

The present thesis deals with the study of alteration in erythrocyte membranes induced by the chronic kidney disease (CKD). In CKD, several defects occur in the mineral metabolism. Using the UV-VIS absorption spectroscopy, we found out the decrease in plasma membrane Ca^{2+} -ATPase activity and also in the Na^+/K^+ -ATPase activity of isolated erythrocyte membranes in stage 2 - 3 CKD patients and stage 4 - 5 CKD patients compared to healthy volunteers. We also found an increase in the total amount of proteins from isolated erythrocyte membranes in stage 2 – 3 CKD patients compared to healthy volunteers. We demonstrated that incubation of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ with isolated erythrocyte membranes (20 min at 37°C) from healthy subjects and stage 2 - 3 CKD increased the plasma membrane Ca^{2+} -ATPase activity. Supplementation of cholecalciferol (Vigantol, 6 months, 14000 IU/week) in stage 2 - 3 CKD patients had no effect on the plasma membrane Ca^{2+} -ATPase activity, but it led to the increase in the total membrane proteins in isolated erythrocyte membranes by compared with the value before the supplementation and reduced the concentration of malondialdehyde corresponding to the reduction of lipid peroxidation. Using fluorescence spectroscopy, we found an increase in the fluorescence anisotropy of DPH (1,6-diphenyl-1,3,5-hexatrien) probe incorporated in the isolated erythrocyte membranes (decrease in the membrane fluidity) in stage 2 - 3 CKD patients after cholecalciferol supplementation compared with the value prior to the supplementation.

Keywords: chronic kidney disease, red blood cells, vitamin D, Plasma Membrane Ca^{2+} -ATPase, Na^+/K^+ -ATPase

Použitá literatura

- ALOIA, R.C. a J.M. BOGGS, 2013. *Membrane Fluidity in Biology: Disease Processes*. Florida: Academic Press. ISBN 978-0-12-053003-8.
- ALVAREZ, J., H. WASSE a V. TANGPRICHA, 2012. Vitamin D supplementation in pre-dialysis chronic kidney disease: A systematic review. *Dermato-endocrinology*. 2012, roč. 4, č. 2, s. 118–27. ISSN 1938-1980.
- ANTONELOU, M.H., H.T. GEORGATZAKOU, V.L. TZOUNAKAS, A.D. VELENTZAS, A.C. KOKKALIS, A.G. KRIEBARDIS a I.S. PAPASSIDERI, 2014. Blood modifications associated with end stage renal disease duration, progression and cardiovascular mortality: a 3-year follow-up pilot study. *Journal of proteomics*. 2014, roč. 101, s. 88–101. ISSN 1876-7737.
- CAZZOLA, R., M. RONDANELLI, S. RUSSO-VOLPE, E. FERRARI a B. CESTARO, 2004. Decreased membrane fluidity and altered susceptibility to peroxidation and lipid composition in overweight and obese female erythrocytes. *Journal of lipid research*. 2004, roč. 45, č. 10, s. 1846–1851. ISSN 0022-2275.
- COLE, C.H., 1973. Decreased ouabain sensitive adenosine triphosphatase activity in the erythrocyte membrane of patients with chronic renal disease. *Clinical Science and Molecular Medicine*. 1973, roč. 45, č. 6, s. 775–784. ISSN 03010538.
- CORRY, D.B., C.C. ELLIS a M.L. TUCK, 1996. Increased inward passive permeability in vitro to sodium in uraemic erythrocytes. *Clinical Science*. 1996, roč. 90, č. 1, s. 3–8. ISSN 01435221.
- COSTA, E., S. ROCHA, P. ROCHA-PEREIRA, E. CASTRO, V. MIRANDA, M. DO SAMEIRO FARIA, A. LOUREIRO, A. QUINTANILHA, L. BELO a A. SANTOS-SILVA, 2008. Altered erythrocyte membrane protein composition in chronic kidney disease stage 5 patients under haemodialysis and recombinant human erythropoietin therapy. *Blood purification*. 2008, roč. 26, č. 3, s. 267–73. ISSN 1421-9735.
- FISKE, C.H. a Y. SUBBAROW, 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.* 1925, roč. 66, č. 2, s. 375–400.
- GAFTER, U., T. MALACHI, H. BARAK, M. DJALDETTI a J. LEVI, 1989. Red blood cell calcium homeostasis in patients with end-stage renal disease. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1989, roč. 114, č. 3, s. 222–231. ISSN 00222143.
- HANAHAN, D.J. a J.E. EKHOLM, 1974. The Preparation of Red cell Ghosts (Membranes). *Methods in Enzymology*. 1974, roč. 31, č. Biomembranes Part A, s. 168–172. ISSN 0076-6879.
- CHENG, J.T., T. KAHN a D.M. KAJI, 1984. Mechanism of alteration of sodium potassium pump of erythrocytes from patients with chronic renal failure. *Journal of Clinical Investigation*. 1984, roč. 74, č. 5, s. 1811–1820. ISSN 00219738.
- KADERJAKOVA, Z., I. LAJDOVA, M. HORVATHOVA, M. MORVOVA a L. SIKUROVA, 2012. Effects of chronic kidney disease on blood cells membrane properties. *Bioelectrochemistry*. 2012, roč. 87, s. 226–229.
- KAJI, D. a T. KAHN, 1987. Na⁺-K⁺ pump in chronic renal failure. *American Journal of Physiology - Renal Fluid and Electrolyte Physiology*. 1987, roč. 252, č. 5.
- KDOQI, 2002. *KDOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease* [online]. Dostupné na: https://www.kidney.org/sites/default/files/docs/ckd_evaluation_classification_stratification.pdf
- KIMMEL, P.L. a M.E. ROSENBERG, 2014. *Chronic Renal Disease*. USA: Elsevier. ISBN 978-0-12-411602-3.
- KOLMAKOVA, E.V., S.T. HALLER, D.J. KENNEDY, A.N. ISACHKINA, G.V. BUDNY, E.V. FROLOVA, G. PIECHA, E.R. NIKITINA, D. MALHOTRA, O.V. FEDOROVA, J.I. SHAPIRO a A.Y. BAGROV, 2011. Endogenous cardiotonic steroids in chronic renal failure. *Nephrology, dialysis, transplantation*. 2011, roč. 26, č. 9, s. 2912–9. ISSN 1460-2385.
- LACLAIR, R.E., R.N. HELLMAN, S.L. KARP, M. KRAUS, S. OFNER, Q. LI, K.L. GRAVES a S.M. MOE, 2005. Prevalence of Calcidiol Deficiency in CKD: A Cross-Sectional Study Across Latitudes in the United States. *American Journal of Kidney Diseases*. 2005, roč. 45, č. 6, s. 1026–1033. ISSN 02726386.
- LAJDOVA, I., V. SPUSTOVA, A. OKSA, Z. KADERJAKOVA, D. CHORVAT JR, M. MORVOVA JR, L. SIKUROVA a A.M. CHORVATOVA, 2015. The Impact of Vitamin D 3 Supplementation on Mechanisms of Cell Calcium Signaling in Chronic Kidney Disease. *BioMed Research International*. 2015.
- LOWRY, O.H., N.J. ROSENBROUGH, A. LEWIS FARR a R.J. RANDALL, 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 1951, roč. 193, č. 1, s. 265–275. ISSN 0021-9258.
- MORVOVÁ, M., I. LAJDOVÁ, V. SPUSTOVÁ, M. ZVARÍK a L. ŠIKUROVÁ, 2014. The effect of vitamin D3 supplementation on intracellular calcium and plasma membrane calcium ATPase activity in early stages of chronic kidney disease. *Physiological Research*. 2014, roč. 63, s. S593–S599. ISSN 08628408.

- NIEMAN, L.K., F.B. DAVIS a P.J. DAVIS, 1983. Effect of end-stage renal disease on responsiveness to calmodulin and thyroid hormone of calcium-ATPase in human red blood cells. *Kidney International*. 1983, roč. 24, č. suppl. 16. ISSN 00852538.
- NORMAN, A.W., 1997. Comparison of 6-s-cis- and 6-s-trans-Locked Analogs of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 Indicates That the 6-s-cis Conformation Is Preferred for Rapid Nongenomic Biological Responses and That Neither 6-s-cis- nor 6-s-trans-Locked Analogs Are Preferred for Genomi. *Molecular Endocrinology*. 1997, roč. 11, č. 10, s. 1518–1531. ISSN 0888-8809.
- OGASAWARA, H. a M. NISHIKAWA, 1993. Evaluation of peripheral metabolic status by determination of Na-K ATPase pump activity in circulating erythrocytes in patients with thyroid diseases and nonthyroidal illnesses. *Endocrine Journal*. 1993, roč. 40, č. 1, s. 27–33. ISSN 09188959.
- POLAK-JONKISZ, D., L. PURZYC a D. ZWOLIŃSKA, 2010. Ca(2+)-Mg (2+)-dependent ATP-ase activity in hemodialyzed children. Effect of a hemodialysis session. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. 2010, roč. 25, č. 12, s. 2501–7. ISSN 1432-198X.
- POLAK-JONKISZ, D., D. ZWOLIŃSKA, L. PURZYC a K. MUSIAŁ, 2007. Ca²⁺-Mg²⁺-dependent ATP-ase activity and calcium homeostasis in children with chronic kidney disease. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. 2007, roč. 22, č. 3, s. 414–9. ISSN 0931-041X.
- SAKTHIVEL, R., S.M. FAROOQ, P. KALAISELVI a P. VARALAKSHMI, 2007. Investigation on the early events of apoptosis in senescent erythrocytes with special emphasis on intracellular free calcium and loss of phospholipid asymmetry in chronic renal failure. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2007, roč. 382, č. 1-2, s. 1–7. ISSN 0009-8981.
- SHINITZKY, M. a Y. BARENHOLZ, 1978. Fluidity parameters of lipid regions determined by fluorescence polarization. *Biochimica et biophysica acta*. 1978, roč. 515, č. 4, s. 367–394. ISSN 03044157.
- SHROFF, R., M. WAN a L. REES, 2012. Can vitamin D slow down the progression of chronic kidney disease? *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*. 2012, roč. 27, č. 12, s. 2167–73. ISSN 1432-198X.
- SOLSKI, J., A. KSIĄŻEK, S. SZYMONIK-LESIUK a Z. MARZEC, 1991. Membrane ATPase, erythrocyte sodium and potassium in haemodialysis patients. *International Urology and Nephrology*. 1991, roč. 23, č. 3, s. 275–280. ISSN 0301-1623.
- WELT, L.G., J.R. SACHS a T.J. MCMANUS, 1964. An ion transport defect in erythrocytes from uremic patients. *Transactions of the Association of American Physicians*. 1964, roč. 77, s. 169–181. ISSN 00669458.
- ZIDEK, W., T. RUSTEMEYER, W. SCHLÜTER, M. KARAS, K. KISTERS a U. GRAEFE, 1992. Isolation of an ultrafilterable Ca(2+)-ATPase inhibitor from the plasma of uraemic patients. *Clinical science*. 1992, roč. 82, č. 6, s. 659–65. ISSN 0143-5221.

Zoznam publikačnej činnosti

ADC Vedecké práce v zahraničných karentovaných časopisoch

ADC01 Kaderjáková, Zuzana [UKOMF000d] (20%) - Lajdová, Ingrid (20%) - Horváthová, M. (20%) - Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (20%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (20%): Effects of chronic kidney disease on blood cells membrane properties

Lit. 13 záz. , 3 obr.

In: Bioelectrochemistry. - Vol. 87, Sp. Iss. (2012), s. 226-229

[Bioelectrochemistry and Bioenergetics 2011 : International Symposium. 21st, Cracow, 8.-12.5.2011]

POZNÁMKA:

Vyšlo aj ako abstrakt - 21th International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics: Abstracts. - Cracow : J. Haber Institute of Catalysis and Surface Chemistry PAS, 2011. - S. 327. - ISBN 978-83-62139-23-1

Ohlasy (1):

[o3] 2013 Ashton Acton, Q.: Leukocytes - Advances in Research and Applications. In: Atlanta : Scholarly Editions, 2013, S. 222

ADC02 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (40%) - Lajdová, Ingrid (20%) - Spustová, Viera (10%) - Zvarík, Milan [UKOMFKJFB] (10%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (20%): The effect of vitamin D3 supplementation on intracellular calcium and plasma membranecalcium ATPase activity in early stages of chronic kidney disease

Lit. 26 záz. , 4 obr.

In: Physiological Research. - Vol. 63, Supl. 4 (2014), Art. No. S593-S599

[Fyziologické dni. 90., Bratislava, 4.-6.2.2014]

Indikátor časopisu:

IF (JCR) 2014=

SJR (SCOPUS) 2014=

SNIP (SCOPUS) 2014=

ADC03 Tóth-Hervay, Nora [UKOPRBMV] (20%) - Goffa, Eduard (10%) - Svrbická, Alexandra [UKOPRBMV] (10%) - Šimová, Zuzana (5%) - Griač, Peter (5%) - Jančíková, Iva (10%) - Gášková, Dana (5%) - Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (10%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (5%) - Gbelská, Yveta [UKOPRBMV] (20%): Deletion of the PDR16 gene influences the plasma membrane properties of the yeast *Kluyveromyces lactis*

Lit. 42 záz. , 4 obr.

In: Canadian Journal of Microbiology. - Vol. 61, No. 4 (2015), s. 273-279

Indikátor časopisu:

IF (JCR) 2015=2013-1,182

SJR (SCOPUS) 2015=

SNIP (SCOPUS) 2015=

AEC Vedecké práce v zahraničných recenzovaných vedeckých zborníkoch, monografiách

AEC01 Morvová, Marcela [UKOMFKAFZM] (12%) - Martišovits, Viktor [UKOMFKAFZMs] (11%) - Morva, Imrich [UKOMFKAFZM] (11%) - Košinár, Ivan [UKOMFKAFZM] (11%) - Janda, Mário [UKOMFKAFZM] (11%) - Kunecová, Daniela [UKOMF000d] (11%) - Kolesárová, Nina - Dreninová, Veronika [UKOMF000d] - Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd]: Nonthermal plasma-based system for exhaust treatment under reduced atmosphere of pyrolysis gases

Publikované nové výsledky výskumu

Lit. 10 záz.

In: Industrial plasma technology : Applications from environmental to energy technologies. - Weinheim : Wiley-VCH, 2010. - S. 105-111. - ISBN 978-3-527-32544-3

AFA Publikované pozvané príspevky na zahraničných vedeckých konferenciách

AFA01 Morvová, Marcela [UKOMFKAFZM] (40%) - Martišovits, Viktor [UKOMFKAFZMs] (10%) - Morva, Imrich [UKOMFKAFZM] (10%) - Košinár, Ivan [UKOMFKAFZM] (10%) - Janda, Mário [UKOMFKAFZM] (10%) - Kunecová, Daniela [UKOMF000d] (10%) - Kolesárová, N. - Dreninová, Veronika [UKOMF000d] - Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd]: Non-thermal plasma based system for exhaust treatment in reduced atmosphere of pyrolysis gases

Lit. 2 záz., 5 obr.

In: 3rd International School of Advances Plasma Technology. - Fukuoka : Kyushu University, 2008. - S. 77-78

[Advances Plasma Technology : International School. 3rd, Varenna, 28.-31.7.2008]

AFC Publikované príspevky na zahraničných vedeckých konferenciách

AFC01 Morvová, Marcela [UKOMFKAFZM] (40%) - Morva, Imrich [UKOMFKAFZM] (20%) - Košinár, Ivan [UKOMFKAFZM] (20%) - Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd]: Plasma technologies for reducing CO₂ emissions in synergy with renewable energy sources

Lit. 4 záz., 4 obr., 1 tab.

In: HAKONE XI: Contributed Papers, Vol. 2. - Toulouse : Université Paul Sabatier, 2008. - S. 387-391

[HAKONE 2008 : International Symposium on High Pressure, Low Temperature Plasma Chemistry. 11th, Oléron Island, 7.-12.9.2008]

AFC02 Morvová, Marcela [UKOMFKAFZM] (40%) - Morva, Imrich [UKOMFKAFZM] (10%) - Košinár, Ivan [UKOMFKAFZM] (10%) - Kunecová, Daniela [UKOMF000d] (10%) - Kolesárová, N. - Dreninová, Veronika [UKOMF000d] - Martins Joao, M. S. - Morvová, Marcela, ml.[UKOMFKJFBd]: Pyrolysis of olive mill solid waste with non-thermal plasma based exhaust cleaning

Lit. 2 záz., 5 obr.

In: HAKONE XI: Contributed Papers, Vol. 2. - Toulouse : Université Paul Sabatier, 2008. - S. 565-569

[HAKONE 2008 : International Symposium on High Pressure, Low Temperature Plasma Chemistry. 11th, Oléron Island, 7.-12.9.2008]

AFD Publikované príspevky na domácich vedeckých konferenciách

AFD01 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (100%) : Zmeny v aktivite enzýmu Ca²⁺-ATPázy pri chronickom ochorení obličiek (CKD)

Recenzované

Lit. 5 záz., 1 graf

In: Študentská vedecká konferencia FMFI UK, Bratislava 2011 : Zborník príspevkov. - Bratislava : Fakulta matematiky, fyziky a informatiky UK, 2011. - S. 75-76. - ISBN 978-80-89186-87-7

[Študentská vedecká konferencia FMFI UK 2011. Bratislava, 19.4.2011]

AFH Abstrakty príspevkov z domácich vedeckých konferencií

AFH01 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (50%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (50%): Sledovanie kolerácie medzi aktivitou enzýmu Ca²⁺-ATPázy a vekom

Lit. 3 záz., 1 obr.

In: Interaktívna konferencia mladých vedcov 2012. - Banská Bystrica : Preveda, 2012. - S. 3. - ISBN 978-80-970712-2-6

[Interaktívna konferencia mladých vedcov 2012. 4., Banská Bystrica, 4.4.-5.5.2012]

AFH02 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (60%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (30%) - Lajdová, Ingrid (10%): Sledovanie korelácie medzi aktivitou CA²⁺-ATPázy a anizotropiou fluorescencie pri chronickom ochorení obličiek

Popis urobený 30.5.2013

Lit. 4 záz.

In: Interaktívna konferencia mladých vedcov 2013. Zborník abstraktov [elektronický zdroj]. - Banská Bystrica : Preveda, 2013. - S. 3-4 [online]. - ISBN 978-80-970712-5-7

[Interaktívna konferencia mladých vedcov 2013. 5., Bratislava, 4.4.-5.5.2013]

URL: <http://www.preveda.sk/media/var/files/Zbornik%202013%20online%20verzia.pdf>

AFH03 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (55%) - Lajdová, Ingrid (15%) - Zvarík, Milan [UKOMFKJFB] (5%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (25%): Aktivita vápnikovej atpázy v skorých štádiách chronického ochorenia obličiek

In: 90. fyziologické dni. - Bratislava : Univerzita Komenského, 2014. - S. 150. - ISBN 978-80-223-3555-3

[Fyziologické dni. 90., Bratislava, 4.-6.2.2014]

AFH04 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (55%) - Lajdová, Ingrid (10%) - Zvarík, Milan [UKOMFKJFB] (5%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (30%): PMCA activity and membrane fluidity in patients with chronic kidney disease

Lit. 3 záz.

In: RBC 2014 : Regional Biophysic Conference. - Smolenice : Slovak Biophysical Society, 2014. - S. 62. - ISBN 978-80-8147-020-2

[Regional Biophysics Conference. Smolenice, 15.-20.5.2014]

AFH05 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (55%) - Zvarík, Milan [UKOMFKJFB] (5%) - Lajdová, Ingrid (10%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (30%): Zmeny vo fluide membrán erytrocytov pacientov s chronickým ochorením obličiek vplyvom 6-mesačnej suplementácie vitamínom D₃

Popis urobený 25.8.2014

Lit. 4 záz.

In: Interaktívna konferencia mladých vedcov 2014. Zborník abstraktov [elektronický zdroj]. - Banská Bystrica : Preveda, 2014. - Nestr. [1 s.] [online]. - ISBN 978-80-970712-6-4

[Interaktívna konferencia mladých vedcov 2014. 6., Bratislava, 7.5.-6.6.2014]

URL: <http://abstracts.preveda.sk/?abstract=1104>

AFL Postery z domácich konferencií

AFL01 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (50%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (50%): Measurement of fluorescence anisotropy as a parameter of membrane fluidity in patients with chronic kidney disease

Lit. 4 záz., 2 obr.

In: 5th Slovak Biophysical Symposium. - [Bratislava] : [Slovak Biophysical Society], 2012. - S. 59-60
[Slovak Biophysical Symposium 2012. 5th, Bratislava, 19.-21.3.2012]

BEF Odborné práce v domácich zborníkoch (konferenčných aj nekonferenčných)

BEF01 Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (50%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (50%): Vplyv veku na aktivitu enzýmu CA2+ -ATPázy pri chronickom ochorení obličiek a v norme

Lit. 13 záz., 2 grafy

In: Súčasný trendy biochemického výskumu. - Bratislava : Univerzita Komenského, 2013. - S. 12-16. - ISBN 978-80-223-3439-6

GHG Práce zverejnené spôsobom umožňujúcim hromadný prístup

GHG01 Lajdová, Ingrid (16%) – Spustová, Viera (12%) – Oksa, Adrián (12%) – Kaderjaková, Zuzana (12%) – Chorvát, Dušan, ml. (12%) - Morvová, Marcela, ml. [UKOMFKJFBd] (12%) - Šikurová, Libuša [UKOMFKJFB] (12%) – Marček Chorvátová, Alžbeta (12%): The impact of vitamin D3 supplementation on mechanisms of cell calcium signaling in chronic kidney disease

Lit. 47 záz., 7 obr., 4 tab.

In: BioMed Research International [elektronický zdroj]. - (2015), Art. ID 807673 [11 s.] [online].

<http://www.hindawi.com/journals/bmri/aa/807673/>

Po vyjdení tlačou a registrovaní v databázach WoS a SCOPUS bude pridelená kategória

ADM Vedecké práce v zahraničných časopisoch registrovaných v databázach Web of Science alebo SCOPUS

Štatistika kategórií (Záznamov spolu: 16):

ADC Vedecké práce v zahraničných karentovaných časopisoch (3)

AEC Vedecké práce v zahraničných recenzovaných vedeckých zborníkoch, monografiách (1)

AFA Publikované pozvané príspevky na zahraničných vedeckých konferenciách (1)

AFC Publikované príspevky na zahraničných vedeckých konferenciách (2)

AFD Publikované príspevky na domácich vedeckých konferenciách (1)

AFH Abstrakty príspevkov z domácich vedeckých konferencií (5)

AFL Postery z domácich konferencií (1)

BEF Odborné práce v domácich zborníkoch (konferenčných aj nekonferenčných) (1)

GHG Práce zverejnené spôsobom umožňujúcim hromadný prístup (1)

Štatistika ohlasov (1):

[o3] Citácie v zahraničných publikáciách neregistrované v citačných indexoch (1)

15.4.2015