

## **Diagnostyka pierwiastkowych i molekularnych zmian narządowych u otyłych szczurów, poddanych przezczaszkowej elektrostymulacji prądem stałym (tDCS), z wykorzystaniem technik spektroskopowych opartych na promieniowaniu X i podczerwieni.**

### **Streszczenie**

Otyłość jest jedną z chorób, którą obecnie w populacji klasyfikuje się jako przyjmującą rozmiary epidemii. Coraz częściej dotyka nie tylko dorosłych, ale również młodzież i dzieci. Jest to choroba wielofunkcyjna i wielonarządowa, przyczyniająca się do rozwoju cukrzycy typu 2, chorób układu krążenia, chorób neurodegeneracyjnych, nowotworów i in.. Niezwykle ważnym w otyłości, jak w przypadku rozwoju większości schorzeń, jest jak najszybsze uchwycenie odstępstw pojawiających się już na początkowym etapie choroby. Ze względu na złożony biologicznie mechanizm rozwoju otyłości brak jest aktualnie bezpiecznego i skutecznego leczenia tej choroby. Jedną z zaproponowanych metod terapii otyłości, jest przezczaszkowa stymulacja prądem stałym (ang. transcranial Direct Current Stimulation, tDCS), która jest techniką nieinwazyjną, polegającą na zastosowaniu niskich prądów elektrycznych, w celu pobudzenia lub zahamowania aktywności wybranego obszaru mózgu. Ponieważ technika ta, wciąż jest na etapie eksperymentalnym, istnieje konieczność oceny jej skuteczności oraz potencjalnych skutków ubocznych przed wprowadzeniem, tDCS do zastosowań medycznych. W tym celu zaproponowano badania z wykorzystaniem szczurów rasy Wistar ukierunkowane na poznanie odpowiedzi biochemicznej organizmu: (1) na wczesnym etapie otyłości indukowanej dietą wysokokaloryczną (porównanie grup nieotyłych i otyłych), (2) pod wpływem stymulacji tDCS (porównanie grup otyłych bez stymulacji, ze stymulacją pozorowaną, a także ze stymulacją w dwóch wariantach anodową i katodową) oraz (3) przy zastosowaniu odmiennych protokołów stymulacji tDCS (porównanie dwóch grup ze stymulacją anodową, o różnym okresie stymulacji, z inną częstotliwością stymulacji i o innym natężeniu prądu stymulacji). Badania objęły diagnostykę w zakresie składu pierwiastkowego oraz struktur lipidów i białek w obszarach mózgu bezpośrednio i pośrednio zaangażowanych w regulację apetytu oraz w narządach/tkankach szczególnie narażonych w otyłości tj. tkance tłuszczowej, wątrobie, nerkach, sercu i tkance mięśniowej.

Do oceny zmian pierwiastkowych wykorzystane zostały dwie metody rentgenowskiej analizy fluorescencyjnej (XRF), tj. rentgenowska analiza fluorescencyjna indukowana promieniowaniem synchrotronowym (SRXRF) – badania tkanki mózgu, oraz rentgenowska analiza fluorescencyjna z całkowitym odbiciem promieniowania X (TXRF) – pozostałe tkanki. Weryfikacja zmian strukturalnych lipidów i białek przeprowadzona została z użyciem techniki spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR). Techniki analityczne zaproponowane do zrealizowania tematu pracy doktorskiej wykazały, przy zastosowanych warunkach eksperymentalnych, pełną przydatność do oznaczenia szeregu pierwiastków oraz pasm absorpcyjnych w podczerwieni istotnych z punktu widzenia problematyki badawczej. W szczególności, oznaczone zostały masy powierzchniowe Na, Mg, Cl, K, Ca, P, S, Fe, Cu, Zn w badanych obszarach tkanek mózgu oraz stężenia K, Ca, Fe, Cu, Zn, Se, Br, Rb, Sr w wybranych narządach/tkankach, a ponadto, parametry molekularne odnoszące się m. in. do nasycenia/nienasycenia lipidów, poziomów trójglicerydów oraz udziału form drugorzędowej struktury białek. Dodatkowo, włączenie do analizy wyników eksperymentalnych zaawansowanych metod eksploracji danych pozwoliło na wyłonienie interesujących obserwacji

w zakresie badanych parametrów pierwiastkowych i molekularnych. Stwierdzono, że najbardziej nasilone zmiany w składzie pierwiastkowym oraz strukturze białek i lipidów we wczesnym stadium otyłości indukowanej dietą wysokokaloryczną obserwuje się w mózgu, wątrobie oraz tkance tłuszczowej. W mózgu, natomiast, największe zmiany pierwiastkowe i w mniejszym stopniu w zakresie parametrów molekularnych w otyłości zachodzą dla obszarów bezpośrednio związanych z regulacją apetytu. Ponadto, dzięki przeprowadzonym eksperymentom wskazano Rb jako potencjalny marker mogący być czynnikiem opisującym wczesne stadium otyłości.

W odniesieniu do stymulacji tDCS, stwierdzono jej wpływ na zmiany pierwiastkowe i makromolekularne zarówno w tkance mózgu jak i badanych narządach. W mózgu podobnie jak w otyłości, najwięcej zmian towarzyszących stymulacji tDCS zaobserwowano w ośrodkach głodu i sytości. W odniesieniu do pozostałych narządów i tkanek największe oddziaływanie stymulacji tDCS na zmiany biochemiczne zaobserwowano w wątrobie i tkance tłuszczowej. Ponadto, stwierdzono, że na skutek stymulacji tDCS w tkankach wątroby i tłuszczowej zarysowuje się tendencja do cofania się zmian wywołanych otyłością w zakresie poziomu pierwiastków i parametrów molekularnych. Wykazano ponadto, że polaryzacja przepływających prądów w stymulacji tDCS nieznacznie wpływa na intensywność zmian biochemicznych w mózgu, natomiast w znacznie większym stopniu na zmiany te oddziałuje wartość stosowanego natężenia prądu jak również częstotliwość stymulacji.

Niniejsza praca doktorska pokazała, że zastosowane połączenie technik SRXRF, TXRF i FTIR, wsparte nowoczesnymi metodami eksploracji danych, jest skutecznym narzędziem do kompleksowej obserwacji zmian pierwiastkowych i makromolekularnych, uczestniczących w złożonych procesach towarzyszących rozwojowi otyłości, a także tych zachodzących w narządach i tkankach pod wpływem stymulacji tDCS.