

Streszczenie

Urazowe uszkodzenie mózgu (ang. traumatic brain injury, TBI) stanowi poważne wyzwanie socjoekonomiczne. Z tego względu intensywnie poszukuje się terapii, które mogłyby minimalizować długofalowe następstwa TBI. Jednym z proponowanych podejść jest wykorzystanie diety ketogenicznej (ang. ketogenic diet, KD), która znajduje kliniczne zastosowanie w leczeniu padaczki lekoopornej. Skuteczność leczenia w TBI może być zależna od wielu czynników, w tym od płci oraz momentu wdrożenia terapii. W związku z tym w niniejszej pracy zbadano wpływ KD oraz płci badanych zwierząt na rozwój blizny glejowej po TBI.

Oprócz metod terapeutycznych istotne jest również rozwijanie i poszukiwanie nowych narzędzi diagnostycznych, umożliwiających szybką i precyzyjną ocenę zmian zachodzących w przebiegu TBI, w tym identyfikację markerów procesu chorobowego oraz zmian indukowanych przez zastosowanie KD. W pracy oceniono potencjał instrumentalnych metod spektroskopii atomowej i molekularnej jako narzędzi do badań nad procesem formowania się blizny glejowej. Analizie poddano próbki pochodzące od zwierząt doświadczalnych, obejmujące skrawki mózgu oraz mineralizaty wybranych narządów wewnętrznych. Badania przeprowadzono z wykorzystaniem mikrospektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera (ang. Fourier transform infrared microspectroscopy, FTIRM), spektroskopii Ramana (ang. Raman spectroscopy, RS), fluorescencji rentgenowskiej całkowitego odbicia (ang. total reflection X-ray fluorescence, TXRF) oraz fluorescencji rentgenowskiej ze wzbudzeniem synchrotronowym (ang. synchrotron X-ray fluorescence, SR-XRF).

Jednym z głównych celów badań była identyfikacja molekuł i pierwiastków, których akumulacja w tkance zmienia się w wyniku TBI oraz modyfikacji, jakie wprowadza w tym zakresie KD, w zależności od płci badanych zwierząt. Analizy prowadzone z wykorzystaniem techniki FTIRM wykazały, że rozwój blizny glejowej powoduje wyraźne zmiany w składzie biomolekularnym kory mózgowej. Obserwowano spadek zawartości związków zawierających grupy fosforanowe, cholesterolu i jego estrów, związków zawierających grupy karbonylowe oraz lipidów, szczególnie nienasyconych. Odwrotne tendencje zaobserwowano w przypadku drugorzędowej struktury białek – na wczesnym etapie rozwoju blizny glejowej stwierdzono wzrost względnej zawartości białek o strukturze β -kardki. Dane uzyskane za pomocą RS okazały się przydatne w ocenie wpływu KD na rejon kory mózgowej niezwiązany bezpośrednio z uszkodzeniem pierwotnym. Efekty KD były szczególnie wyraźne u samic, u których odnotowano wzrost poziomu cytochromu C/DNA, estryfikacji lipidów, amidu III oraz stopnia nienasycenia lipidów – podobne, choć mniej intensywne zmiany, obserwowano również u samców. Analizy skrawków mózgu przeprowadzono także z wykorzystaniem techniki SR-XRF, co pozwoliło szczegółowo ocenić fizjologię rozwoju blizny glejowej w czasie. Najistotniejsze obserwacje dotyczyły zmian w rozkładzie pierwiastków takich jak wapń, żelazo i miedź. Nie stwierdzono, natomiast istotnego modyfikującego wpływu KD w tym zakresie. Ze względu na potencjalnie plejotropowe działanie KD, oceniono również wpływ diety na narządy wewnętrzne. Analizie poddano wątrobę, nerki i śledzionę, a ich mineralizaty zbadano za pomocą metody TXRF. Uzyskane wyniki potwierdziły obciążający wpływ KD na organy wewnętrzne, przy czym szczególnie wrażliwe na dietę okazały się nerki, w których stwierdzono znaczące odchylenia poziomów wapnia i fosforu w porównaniu z grupą kontrolną.

Zastosowanie metod spektroskopowych dostarczyło nowego wglądu w odpowiedź organizmu szczurów na KD w warunkach TBI. Każda z wykorzystanych technik spektroskopowych okazała się przydatna w charakteryzowaniu profilu obserwowanych zmian. FTIRM umożliwiła precyzyjne wyznaczenie granic obszaru powstałego uszkodzenia. Wpływ diety ketogenicznej na przebieg TBI oraz skład molekularny kory mózgowej został zobrazowany przy użyciu RS. Natomiast technika TXRF dostarczyła informacji na temat zmian w składzie pierwiastkowym narządów wewnętrznych. Z kolei analizy przeprowadzone z wykorzystaniem SR-XRF zwróciły uwagę na dynamikę zmian w akumulacji pierwiastków w obrębie formującej się blizny glejowej, co przyczynia się do lepszego zrozumienia procesu pourazowej reakcji glejowej.