

Emilia Staniszevska-Ślęzak

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.

SPEKTROSKOPIA ABSORPCYJNA W PODCZERWIENI W DIAGNOSTYCE CUKRZYCY I NADCIŚNIENIA

Spektroskopia absorpcyjna w podczerwieni umożliwia w stosunkowo krótkim czasie identyfikację różnych składników biochemicznych w badanej próbce. Bardzo małe ilości próbki potrzebne do analizy na poziomie mikrolitrów czynią ze spektroskopii FTIR potężne narzędzie w badaniach diagnostycznych wybranych jednostek chorobowych.

Celem niniejszej rozprawy doktorskiej było opracowanie nowatorskiej metodyki wykorzystującej spektroskopię absorpcyjną w podczerwieni wraz z analizą chemometryczną do szybkiej oceny zmian biochemicznych dla wybranych składników krwi dla trzech jednostek chorobowych: cukrzycy typu drugiego, nadciśnienia tętniczego oraz nadciśnienia płucnego.

W ramach niniejszej pracy doktorskiej zbadano: profile spektralne wszystkich składników krwi, wpływ suszenia osocza na widma FTIR. Określono markery spektralne hemolizy na widmach FTIR osocza. Ponadto wykazano wpływ zastosowanych antykoagulantów na profil spektralny osocza. Przeprowadzono porównanie technik pomiarowych spektroskopii FTIR. Przeprowadzono szczegółową analizę profili biochemicznych: osocza z mysiego modelu cukrzycy i nadciśnienia tętniczego ze wskazaniem wczesnych etapów rozwoju tej choroby, surowicy i osocza dla dwóch zwierzęcych modeli nadciśnienia płucnego. Wszystkie wymienione wątki przyczyniły się do scharakteryzowania trzech jednostek chorobowych powiązanych ze sobą dysfunkcją śródbłonna naczyniowego.

Przeprowadzone badania dla mysiego modelu cukrzycy wskazały liczne zmiany w profilu spektralnym osocza, poza tymi znanymi już z literatury. Wśród nich należy wymienić zmianę długości łańcuchów kwasów tłuszczowych, tworzenie się białek fibrylarnych, fosforylacja tyrozyny oraz zmiany zawartości RNA. Dodatkowo wykazano, że dawkozależna odpowiedź na terapię perindopilem widoczna jest jako zmiany w intensywności pasm wskazujących na stopień nienasycenia lipidów, tworzenie się białek fibrylarnych oraz fosforylację tyrozyny. Zwrócono również uwagę na wpływ efektu metabolicznego na poprawną interpretację widm FTIR osocza myszy cukrzycowych.

W przypadku badań nad wskazaniem zmian spektralnych w widmie FTIR osocza dla wczesnego etapu rozwoju nadciśnienia tętniczego zaobserwowano głównie zmiany związane ze strukturą drugorzędową białek. Na skutek niedoboru NO następuje zmiana w zawartości białek o strukturze α -helisy/ nieuporządkowanej oraz antyrównoległej β -kardki w stosunku do całkowitych białek osocza. Nadciśnienie tętnicze charakteryzuje się spadkiem zawartości białek tyrozynowych w osoczu. Ponadto zaobserwowano wzrost zawartości: całkowitej lipidów i wolnych aminokwasów o różnym składzie strukturalnym. Odnotowano również spadek zawartości RNA i fosfolipidów. Zastosowanie metod chemometrycznych analizy danych pozwoliło na wskazanie wczesnego etapu rozwoju choroby, dla którego wyniki pomiarów ciśnienia wskazywały na dużo niższe wartości niż dla stanu zaawansowanego.

Badania dotyczące zwierzęcego modelu nadciśnienia płucnego wykazały, że choroba ta posiada następujący zestaw markerów spektralnych w odniesieniu do modelu szczurzego: spadek zawartości całkowitej lipidów, przy równoczesnej syntezie białek bogatych w tyrozinę, białek fibrylarnych oraz RNA. Należy podkreślić fakt iż pomiary FTIR wskazują podobny trend zmian dla surowicy i osocza ubogopłytkowego. Natomiast różnice obserwowane są w momencie zmiany modelu zwierzęcego ze szczurów względem myszy. Zmiany te związane są z całkowitą zawartością lipidów oraz RNA – w modelu szczurzym obserwowany jest spadek lipidów i wzrost zawartości RNA, natomiast model myszy charakteryzuje się odwrotnymi trendami. Ponadto analiza widm FTIR dla modelu mysiego nadciśnienia płucnego wskazały na specyficzne zmiany dla osocza ubogopłytkowego, co stanowi pierwszy krok do zastosowania spektroskopii FTIR do analizy dysfunkcji śródbłonna ściśle związanej z aktywnością płytek krwi.

W ramach niniejszej rozprawy doktorskiej nie tylko opracowano szybką metodykę oceny zmian biochemicznych dla osocza/ surowicy w zwierzęcych modelach cukrzycy, nadciśnienia systemowego oraz nadciśnienia płucnego za pomocą spektroskopii FTIR, ale również scharakteryzowano zmiany biochemiczne zachodzące w osoczu i surowicy wybranych jednostek chorobowych. Uzyskane wyniki wskazały, iż markery spektralne dla każdej z jednostek chorobowych są różne i unikalne.