

Tytuł rozprawy: Mikrospektroskopowe badania fluorescencyjne tkanki łącznej i jej patologii

Autor: Wojciech Ciszek

Streszczenie

W organizmie człowieka kości i chrząstki pełnią wiele ważnych funkcji, a stany chorobowe tych tkanek mają znaczny wpływ na zdrowie całego ciała. Dzięki obecnemu rozwojowi techniki można badać stany patologiczne tych elementów ciała. Jednym z narzędzi jest konfokalny mikroskop fluorescencyjny. Pozwala obrazować elementy tkanki z dużą dokładnością oraz umożliwia pomiar widmowych autofluorescencji na poziomie mikroskopowym, dzięki którym uzyskujemy więcej informacji na temat badanego obiektu. W niniejszej pracy zastosowano te narzędzie do badań 2 typów ludzkiej tkanki łącznej: kości i chrząstek.

Przeprowadzono badanie rozwoju piszczeli noworodków szczurzych w 7, 14 i 28 dniu życia, których matkom w czasie ciąży podawano lek antyretrowirusowy – zidowudynę. Zarejestrowane obrazy konfokalne ujawniły, że w pierwszych 14 dniach życia kości grupy leczonej są masywniejsze i osiągają wyższy stopień rozwoju macierzy kostnej w porównaniu z kontrolą. Zmierzone widma autofluorescencji wykazały, że największe różnice w ilości i funkcjonowaniu składników osteoidu pojawiają się w 14 dniu życia noworodków. Badania grupy 28-dniowej wykazały stopniowe zanikanie zaburzeń zaobserwowanych dla młodszych osobników. Z przeprowadzonych badań wynika, że terapia zidowudyną w czasie ciąży powoduje niefizjologicznie przyspieszony rozwój macierzy kostnej noworodków szczurzych w pierwszych 2 tygodniach życia, który z czasem wraca do stanu normy.

Ponadto przeprowadzono badania obejmujące oszacowanie biogodności ludzkich chrząstek nosa, ucha, krtani i stawu na potrzeby autotransplantacji. Z wykorzystaniem obrazowania konfokalnego stwierdzono, że największą ilość chondrocytów posiada chrząstka nosa. Nieznacznie mniejszą liczbę tych komórek wykazuje chrząstka małżowiny usznej. Z przeprowadzonych analiz wynika, że chrząstka stawowa posiada dużą ilość macierzy zewnątrzkomórkowej pozbawionej chondrocytów. Pomiar autofluorescencji z rejonu macierzy zewnątrzkomórkowej wykazały występowanie nieznacznych różnic pomiędzy chrząstkami we wstępującej części widma, które najprawdopodobniej wskazują na dysproporcje w stężeniu elastyny. Uzyskane wyniki badań porównawczych chrząstek dowodzą, że chrząstka nosa, ucha, krtani i stawu są wystarczająco biokompatybilne ze sobą, by je wzajemnie zastępować w autotransplantacji.

Słowa kluczowe: konfokalna mikroskopia fluorescencyjna, macierz zewnątrzkomórkowa ECM, osteoid

Dissertation title: Microspectroscopic fluorescence studies of connective tissue and its pathology

Author: Wojciech Ciszek

Abstract

In the human body, bones and cartilage perform many important functions, and disease states of these tissues have a significant impact on the health of the entire body. With current advances in technology, pathological states of these body components can be studied. One tool is the confocal fluorescence microscope. It allows imaging of tissue elements with high accuracy and enables measurement of spectral autofluorescence at the microscopic level, which gives us more information about the studied object. In the present study, this tool was used to study 2 types of human connective tissue: bones and cartilage.

A study of the tibia development of rat newborns at 7, 14, and 28 days of age whose mothers were administered the antiretroviral drug zidovudine during pregnancy was performed. The recorded confocal images revealed that in the first 14 days of life, the bones of the treatment group are more massive and achieve a higher degree of bone matrix development compared to the control. Measured autofluorescence spectra showed that the greatest differences in the amount and function of osteoid components occur at day 14 after animal birth. Studies of the 28-day-old group showed a gradual disappearance of the abnormalities observed for younger individuals. Our study suggests that zidovudine therapy during pregnancy results in unphysiologically accelerated bone matrix development in rat neonates during the first 2 weeks of life, which returns to normal over time.

In addition, a study was conducted involving the estimation of the biocompatibility of human nasal, ear, laryngeal, and joint cartilages for autotransplantation. Using confocal imaging, it was found that nasal cartilage has the highest number of chondrocytes. The auricle cartilage shows a slightly lower number of these cells. The analyses show that articular cartilage has a large amount of extracellular matrix devoid of chondrocytes. Autofluorescence measurements from the extracellular matrix region showed slight differences between the cartilages in the ascending part of the spectrum, which most likely indicate a disparity in elastin concentration. Performed comparison results demonstrate that the cartilage of the nose, ear, larynx, and joint are sufficiently biocompatible with each other to be mutually substitutable in autotransplantation.

Keywords: confocal fluorescence microscopy, extracellular matrix ECM, osteoid