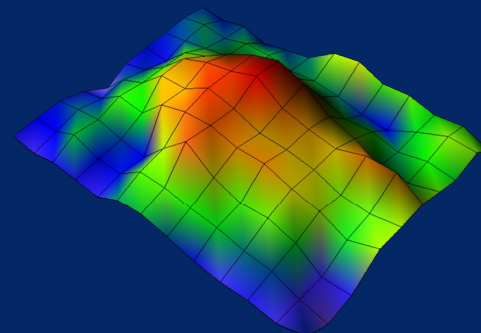
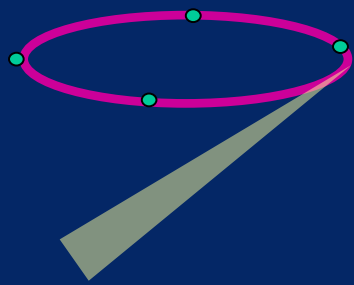

Badania nad schorzeniami neurodegeneracyjnymi przy wykorzystaniu wybranych metod spektroskopowych

Dr inż. Magdalena Szczerbowska-Boruchowska

Zakład Metod Jądrowych, WFiS



Plan wystąpienia

- 1. Wprowadzenie (cel badań, jednostki współpracujące)*
- 2. Krótka prezentacja badanych schorzeń*
- 3. Materiał badawczy*
- 4. Techniki spektroskopowe stosowane w badaniach*
- 5. Mikrospektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera*
 - 5.1. Podstawy teoretyczne techniki*
 - 5.2. Aparatura i warunki pomiarowe*
 - 5.3. Wyniki badań dla grupy kontrolnej, PD i ASL*
 - 5.4. Podsumowanie badań wykonanych z zastosowaniem mikrospektroskopii FT-IR*

Plan wystąpienia, c.d.

6. Analiza pierwiastkowa tkanki OUN (SR-XRF, XANES)

- 6.1. SR-XRF. Aparatura i warunki pomiarowe, porównanie parametrów i granic wykrywalności w ESRF (ID 22) i HASYLAB (L)*
- 6.2. SR-XRF. Wyniki analizy topograficznej w zależności od rozmiarów wiązki*
- 6.3. SR-XRF. Wyniki analizy ilościowej dla grupy kontrolnej i badanych neurodegeneracji*
- 6.4. XANES. Podstawy techniki.*
- 6.5. XANES. Wyniki analizy stopni utleniania Fe w tkance OUN*
- 6.6. XANES. Wyniki analizy stopni utleniania Cu w tkance OUN*

Plan wystąpienia, c.d.

7. Podsumowanie badań pierwiastkowych tkanki OUN

8. Plany na przyszłość

Cel badań

Analiza składu pierwiastkowego, stopni utlenienia pierwiastków oraz związków organicznych w strukturach tkanki ośrodkowego układu nerwowego (OUN) człowieka dla potrzeb neurologii, neurobiologii.

Badania w kierunku wybranych schorzeń ośrodkowego układu nerwowego (choroba Parkinsona, stwardnienie zanikowe boczne, nowotwory mózgu)

Jednostki współpracujące

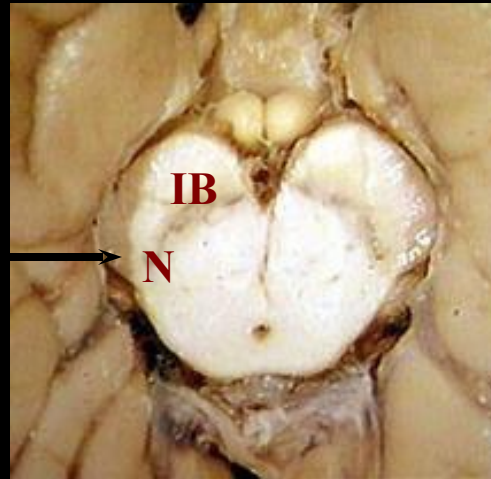
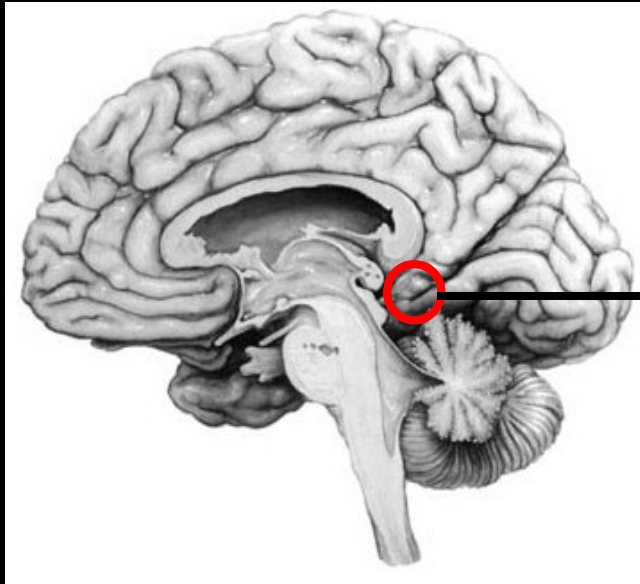
- 1. Zakład Metod Jądrowych, WFiS, AGH*
- 2. Zakład Neuropatologii, Instytut Neurologii, CM UJ*
- 3. Klinika Neurologii, Instytut Neurologii, CM UJ*
- 4. Katedra Biochemii Lekarskiej, CM UJ*
- 5. Katedra Fizjologii CM UJ*
- 6. European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble,
Francja (linie ID 22, ID 21)*
- 7. HASYLAB, Hamburg, Niemcy (linie L)*
- 8. Synchrotron SOLEIL, Gif-sur-Yvette, Francja
(linia SMIS) $\Leftarrow$ (LURE)*

Badane schorzenia neurodegeneracyjne

Choroba Parkinsona: choroba ośrodkowego układu nerwowego manifestująca się zaburzeniami ruchowymi. Bezpośrednią przyczyną choroby jest stopniowe zmniejszanie się ilości dopaminy (neuroprzekaźnik) w mózgu wskutek obumierania komórek wytwarzających dopaminę (głównie neurony istoty czarnej). Nie są znane natomiast przyczyny zaniku neuronów.

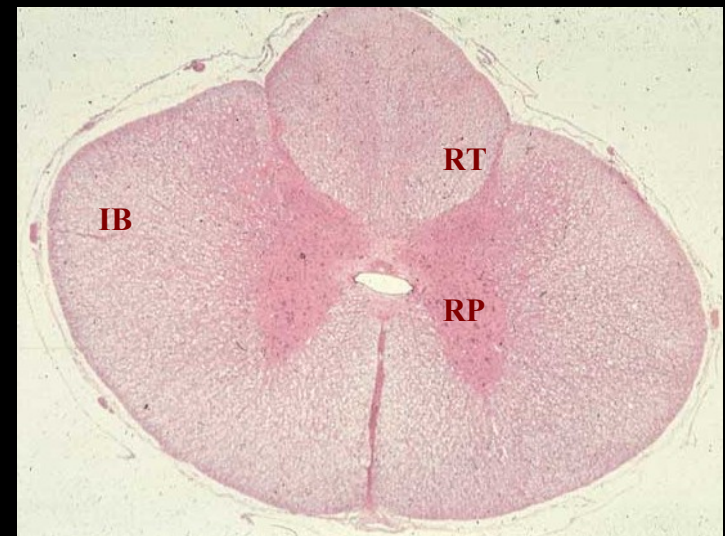
Stwardnienie zanikowe boczne: postępujące schorzenie neurodegeneracyjne, którego jedną z cech jest degeneracja i zanik neuronów ruchowych szczególnie w rdzeniu kręgowym, jądrach ruchowych pnia mózgu oraz w „korze ruchowej”. Choroba całkowicie nieuleczalna, prowadząca do uszkodzeń neuronów sterujących motoryką, a w rezultacie - do zaniku mięśni. Etiologia podobnie jak w przypadku choroby Parkinsona nie jest poznana.

Materiał badawczy



*Istota czarna
mózgu*

*Rdzeń
kręgowy*



Preparatyka próbek

nie utrwalana tkanka z okolic OUN



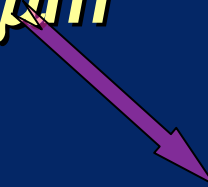
zamrażanie (-30 °C) i cięcie na kriomikrotomie



skrawki 20 μm



techniki spektroskopowe



histopatologia



nakładanie na folię AP1, ultralene



suszenie w temperaturze -20 °C

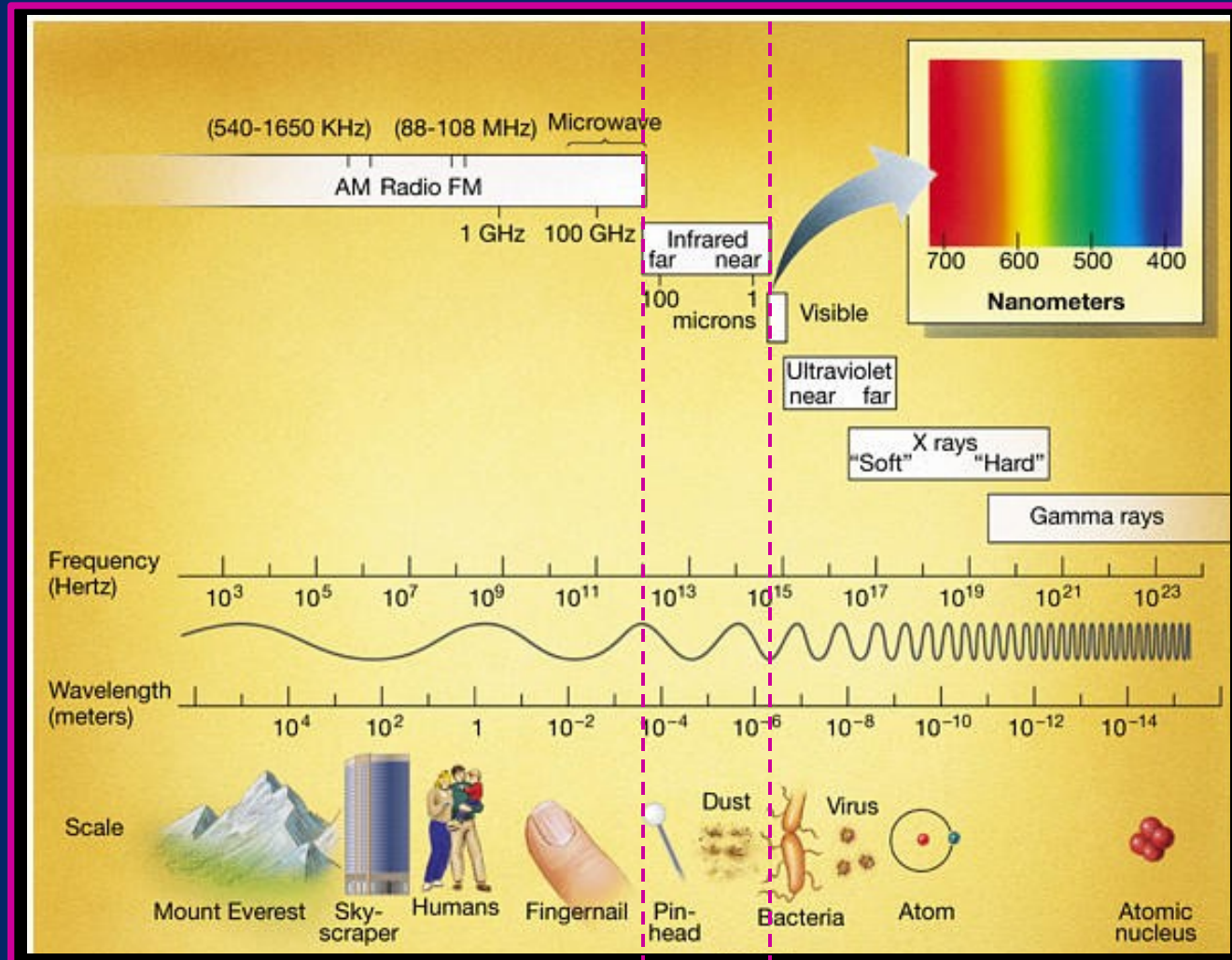
Stosowane techniki badawcze

-  *Synchrotronowa Rentgenowska Mikroanaliza Fluorescencyjna, SR-XRF - analiza składu pierwiastkowego*
-  *Spektroskopia absorpcji promieni X w pobliżu progu absorpcji, XANES - badanie stopni utlenienia Fe i Cu*
-  *Mikrospektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera - analiza biomolekuł*



***MIKROSPEKTROSKOPIA
W PODCZERIWENI
Z TRANSFORMACJĄ FOURIERA (FT-IR)***

Widmo promieniowania elektromagnetycznego



Bliska IR: $4000 - 14000 \text{ cm}^{-1}$; Średnia IR: $500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$; Daleka IR: $5 - 500 \text{ cm}^{-1}$

Typy drgań molekuł

- Liniowy układ „n” atomów: $3n-5$ typów drgań
- Nieliniowy układ „n” atomów: $3n-6$ typów drgań

Drgania rozciągające

symetryczne asymetryczne

Drgania deformacyjne (zginające)

kołyszące

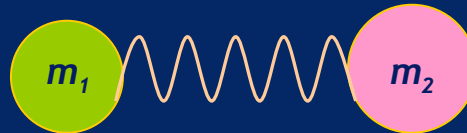
nożycowe

wachlarzowe

skręcające

Podstawy spektroskopii w podczerwieni

Makroskopowy model drgającej cząsteczki

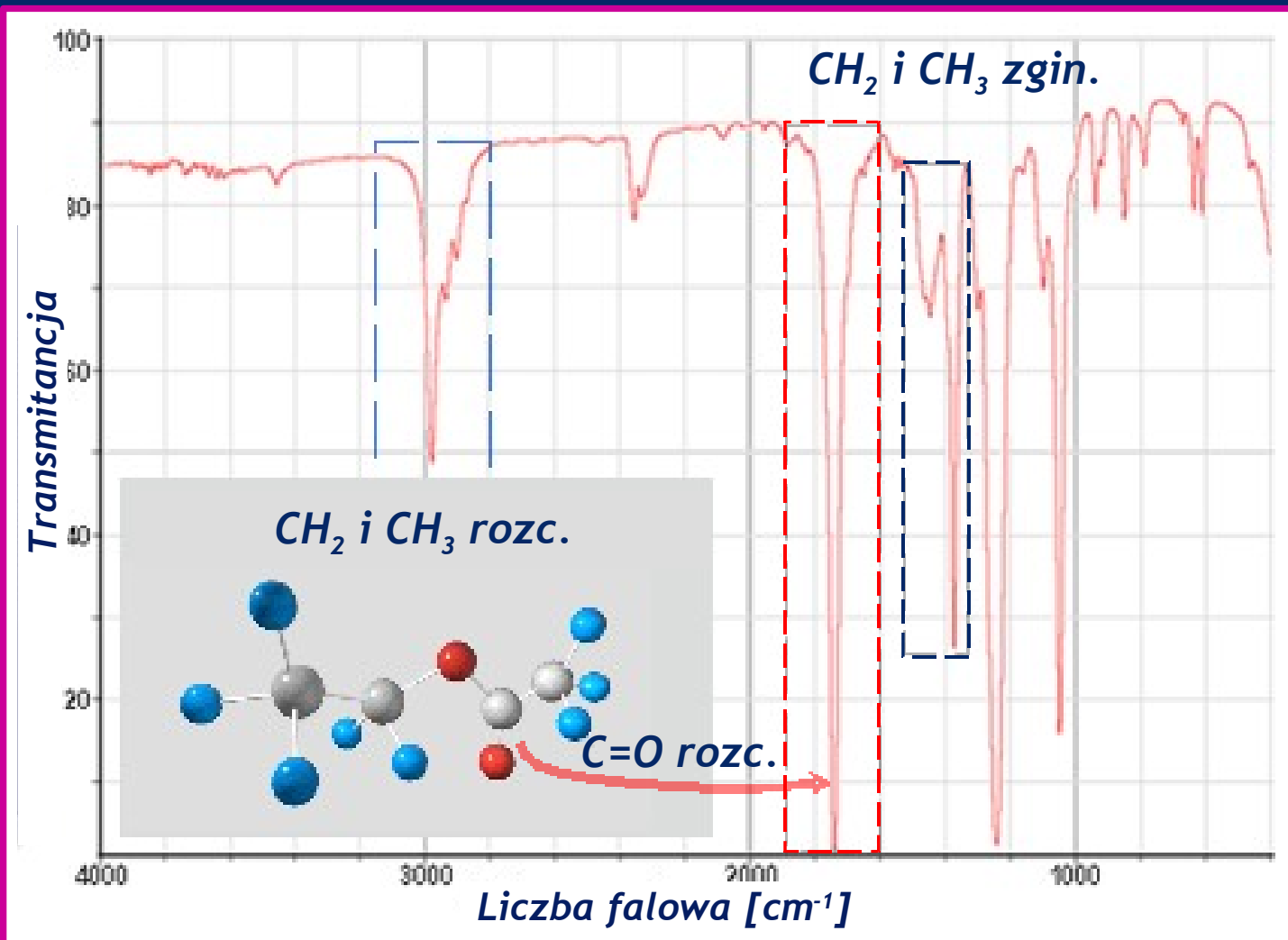


$$\nu_{\text{osc}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{k \frac{m_1 + m_2}{m_1 m_2}}$$

k - stała siłowa; m_1, m_2 - masa atomów

- Absorbowane jest tylko promieniowanie o częstotliwości odpowiadającej częstotliwości drgań danego wiązania w cząsteczce i takie, którego częstotliwość spowoduje zmianę elektrycznego momentu dipolowego cząsteczki
- Absorpcja promieniowania IR przez drgające molekuły $\Rightarrow$ zmiana energii oscylacyjnej

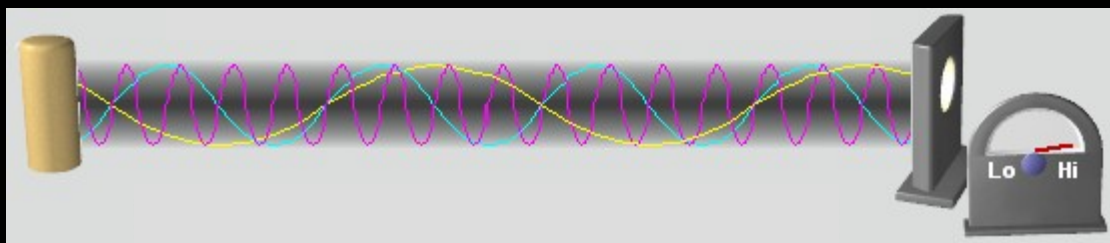
Przykładowe widmo FTIR (octan etylu)



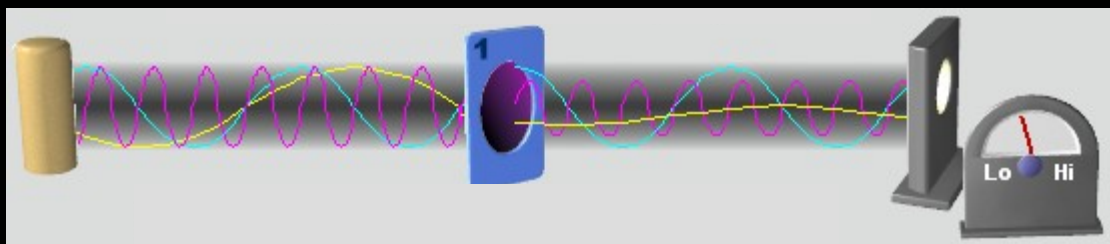
Zasada działania spektrometru IR

Źródło

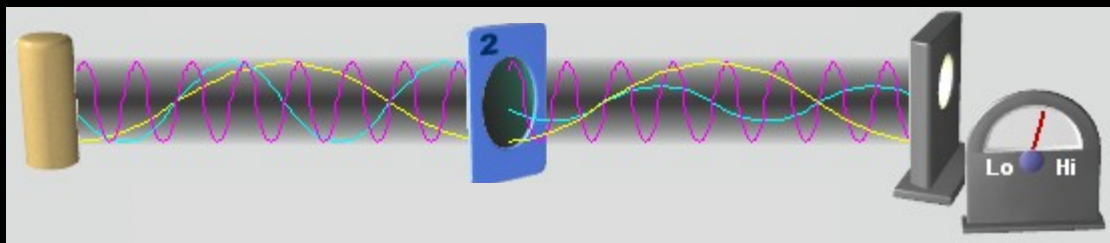
Detektor



Pomiar promieniowania IR źródła

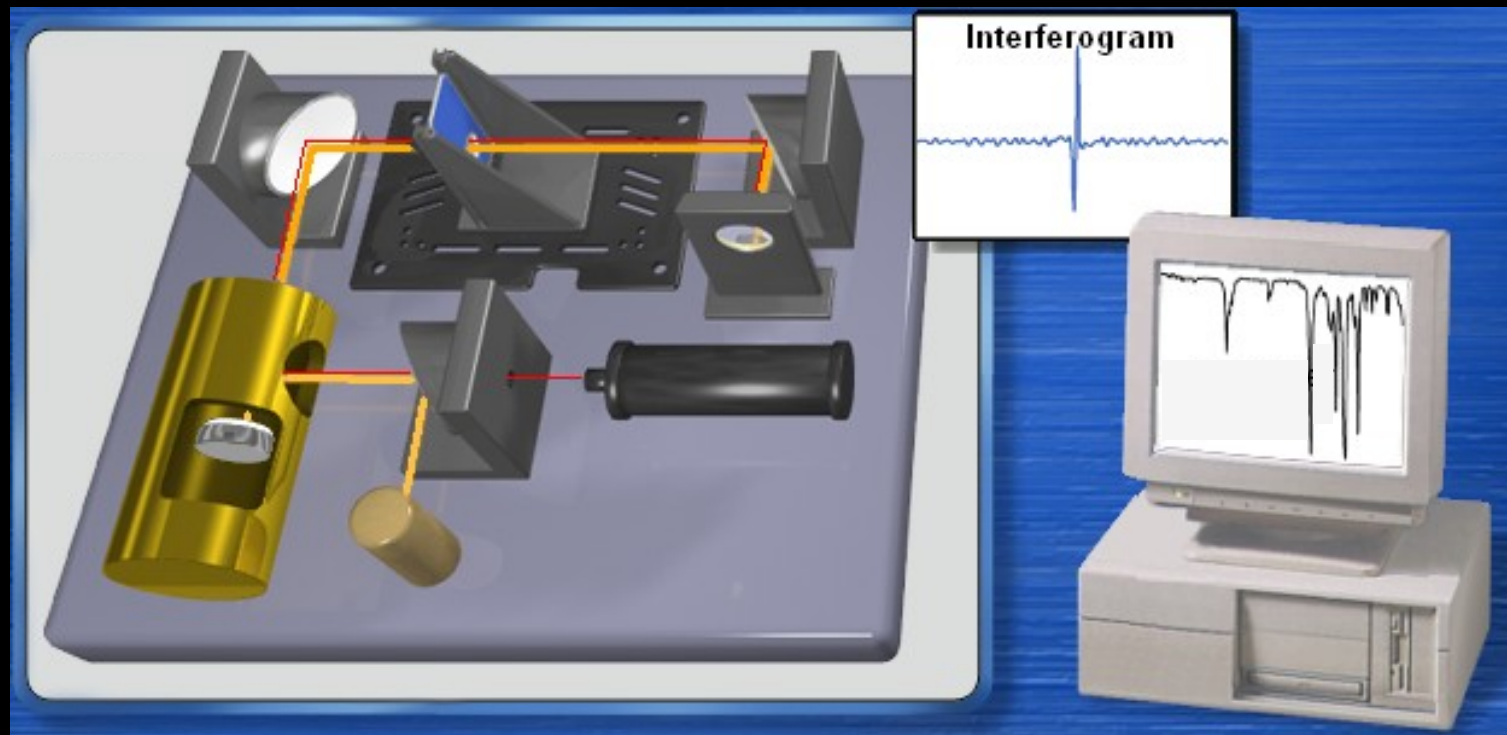


*Ocena zmiany wiązki IR po
umieszczeniu próbki na drodze
promieniowania*



Zasada działania spektrometru FT-IR

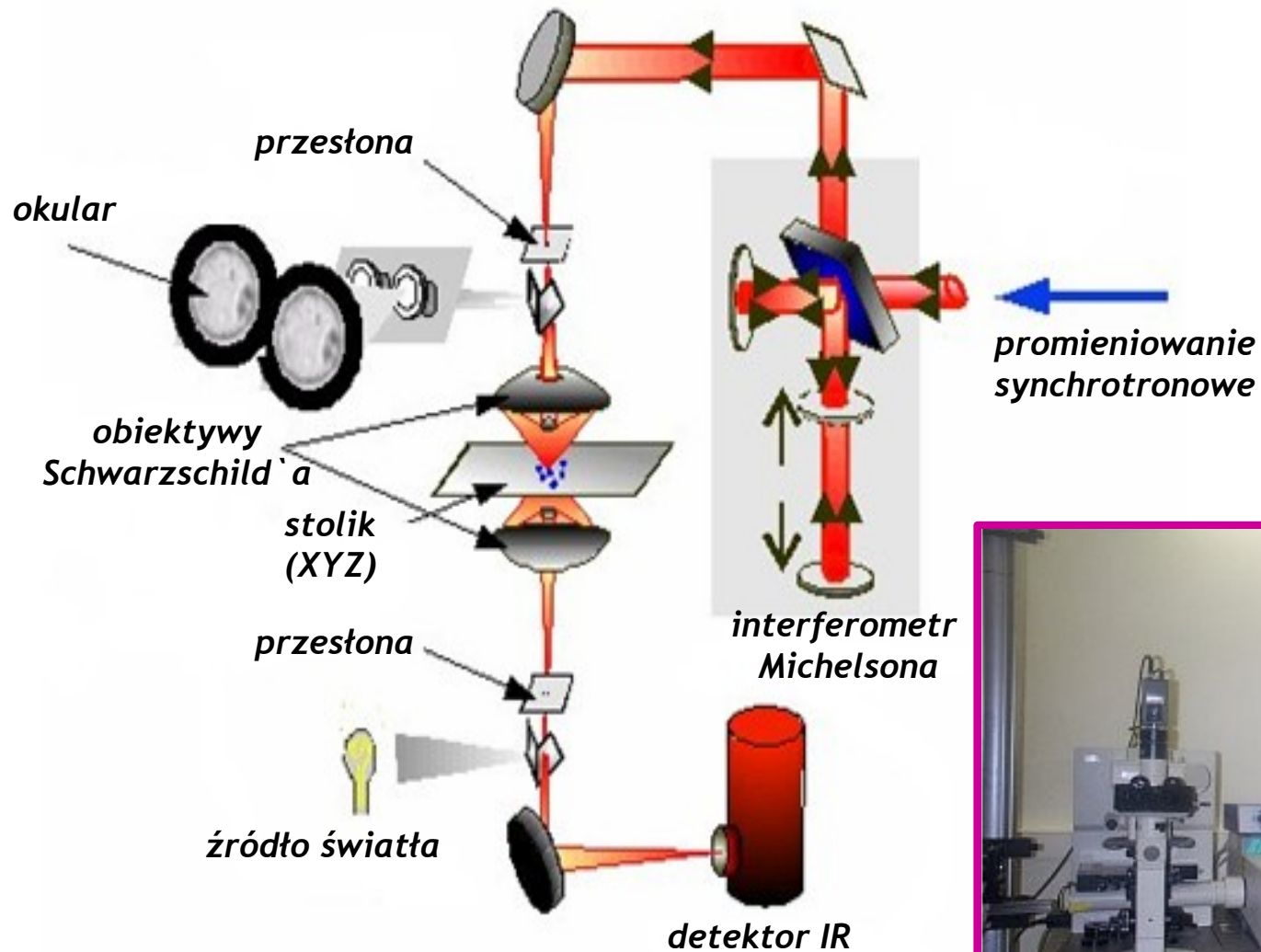
Układ optyczny



Komputer

- *Układ optyczny - pomiar intensywności specjalnie zakodowanej wiązki IR po przejściu przez próbkę (typowy spektrometr IR)*
- *Interferogram - sygnał całkowitej intensywności promieniowania IR docierającego do detektora przy danej pozycji zwierciadła ruchomego*
- *Komputer - transformacja Fouriera interferogramu, dostarczenie informacji*

FT-IR; Aparatura pomiarowa



LURE, Orsay

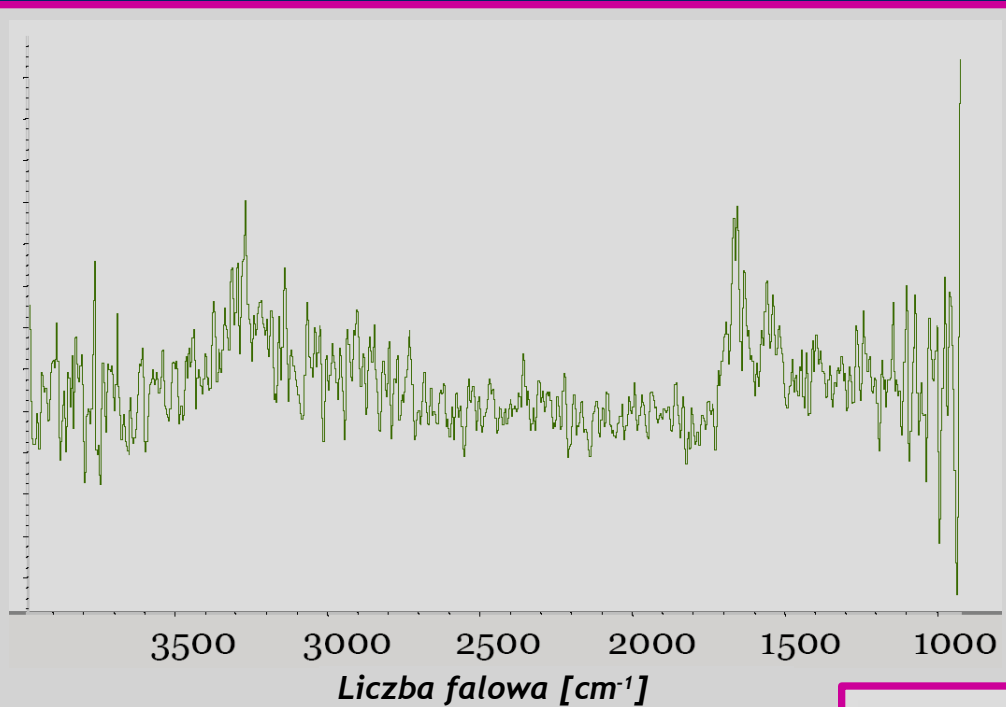


FT-IR; Aparatura pomiarowa (Mirage, SA5, LURE)

- *Spektrometr FTIR Nicolet, Magna-IR560;*
- *Źródło zewnętrzne: synchrotron*
- *Źródło lokalne: pręt węgliku krzemu (SiC) - globar*
- *Mikroskop IR Nic-Plan (Nicolet, Thermo-Optic);*
- *Rozmiar wiązki $6 \times 6 \mu\text{m}$ (synchrotron), $18 \times 18 \mu\text{m}$ (globar)*
- *Detektor podczerwieni MCT (mercury cadmium telluride - HgCdTeO_2)*

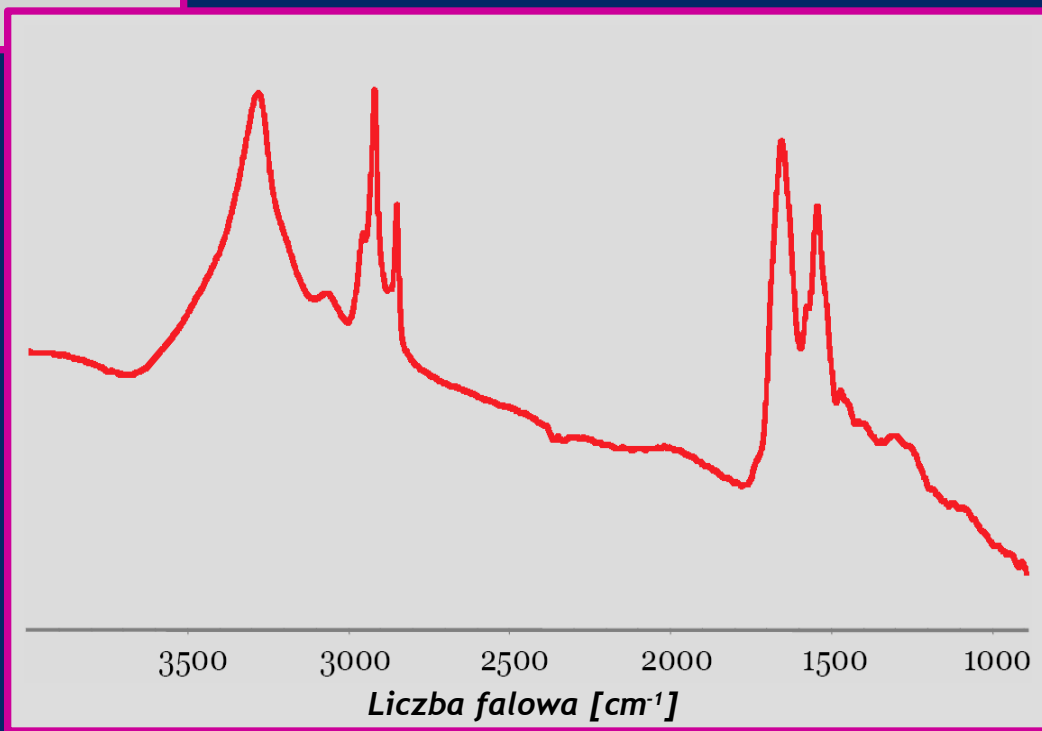
Zalety stosowania synchrotronowego źródła IR





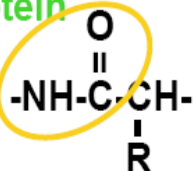
*Globar: 6x6 μm^2
1000 skanów = 500 s*

*Synchrotron: 3x3 μm^2
32 skanów = 16 s*

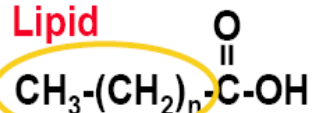


Własności chemiczne molekuł biologicznych

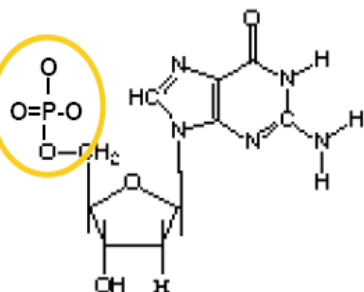
Protein



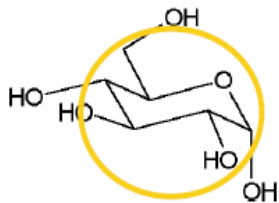
Lipid



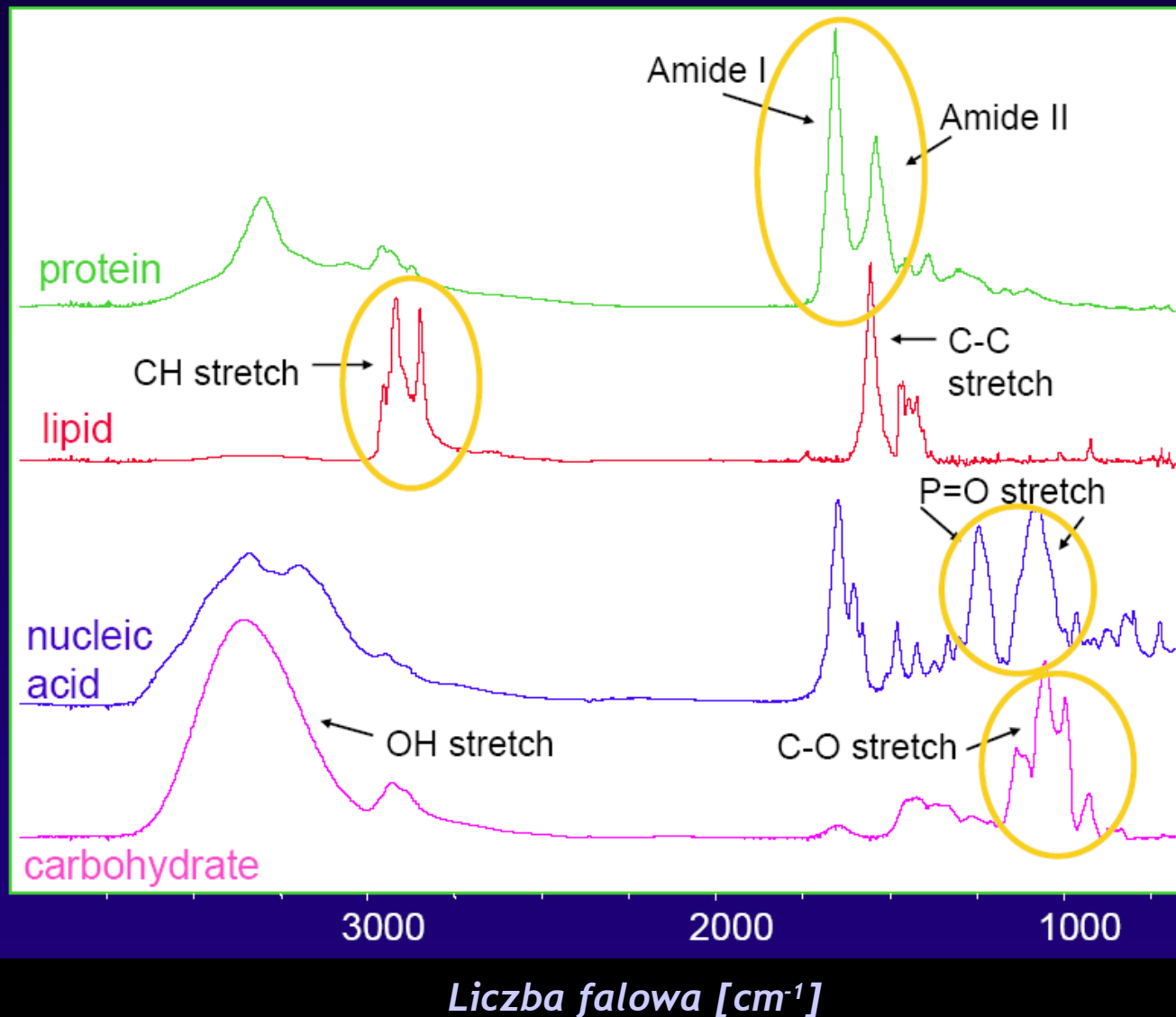
Nucleic Acid



Carbohydrate



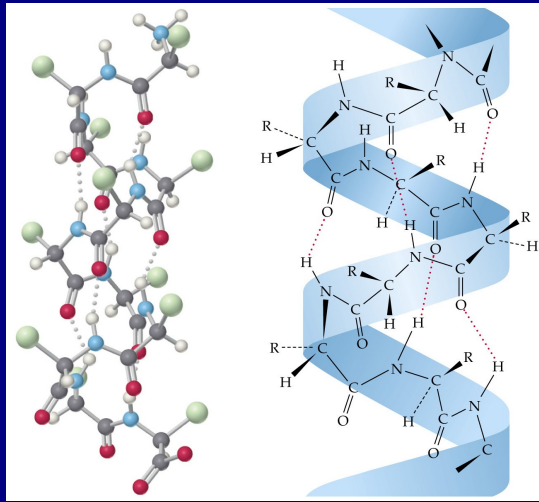
absorbancja



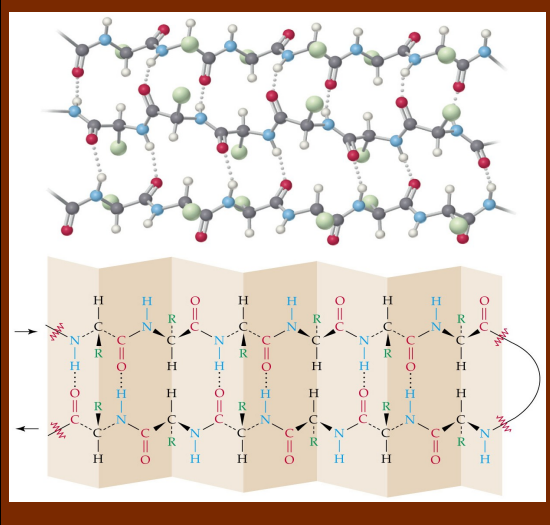
Typ makromolekuł	Częstotliwość drgań [cm ⁻¹]	Typ drgania normalnego
białka	3350	N-H rozciągające
	3060	N-H zginające
	1655	C=O rozciągające(amid I)strukt.α
	1627	C=O rozciągające(amid I)strukt.β
	1544	N-H zginające (amid II) strukt.α
lipidy, białka	1740	C-O rozciągające (utl. C=O)
lipidy, cukry	1173	CO-O-C rozciągające sym
lipidy	2956	C-H (-CH ₃) rozciągające sym
	2924	C-H (-CH ₂) rozciągające asym
	1457	CH ₃ zginające asym
lizofosfolipidy sfingomieliny	1405	(CH ₃) ₃ N ⁺ zginające sym
kwasy nukleinowe, fosfolipidy	1238	P-O zginające asym
	1085	P-O zginające sym
	1047	C-O-P rozciągające
białka, cukry	3300	O-H rozciągające

Oznaczenia struktury drugorzędowej białek

α - helix



β - sheet

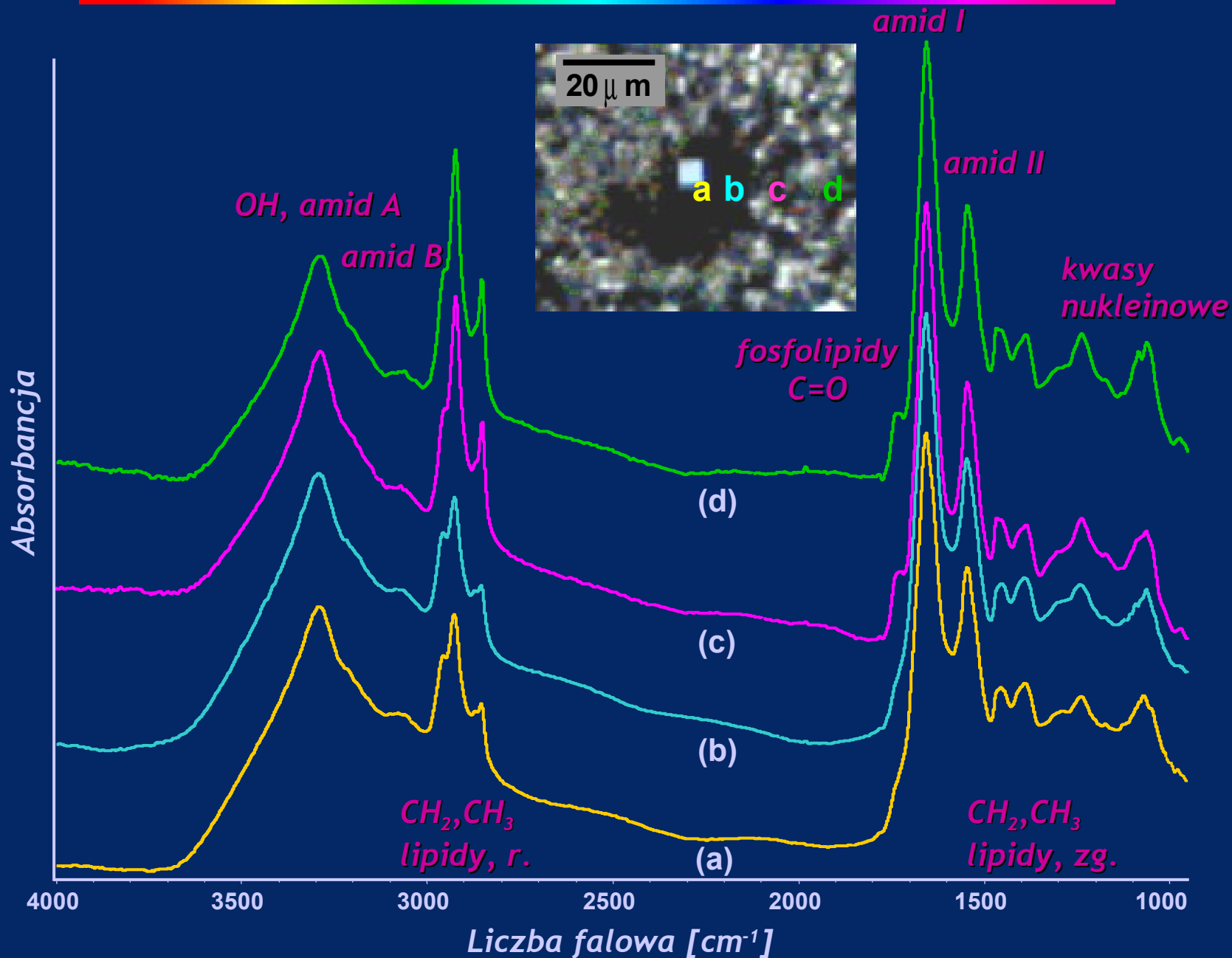


absorbancja

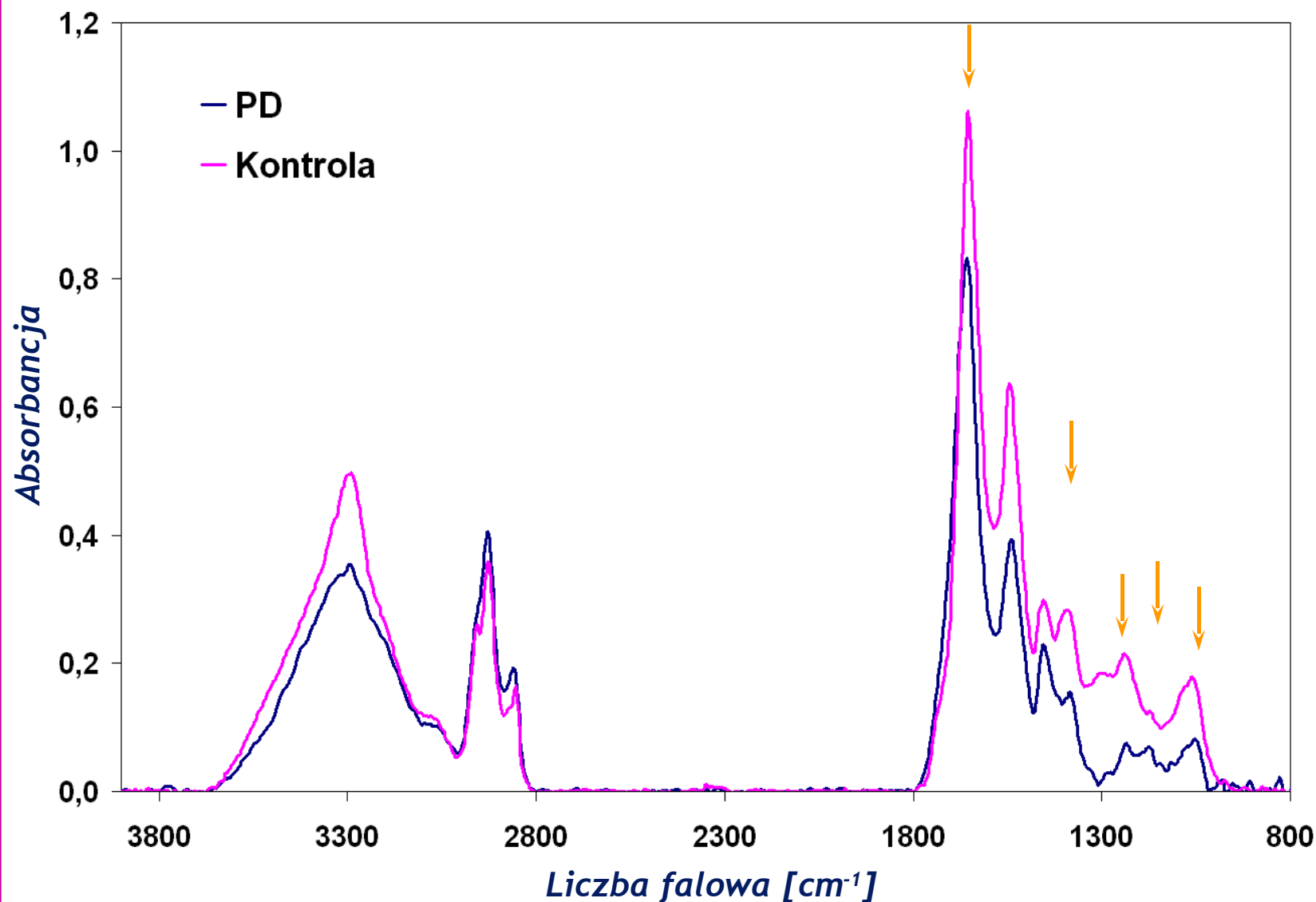
<http://cop.utmem.edu/lyophilization/figure1b-3.gif>

Liczba falowa [cm^{-1}]

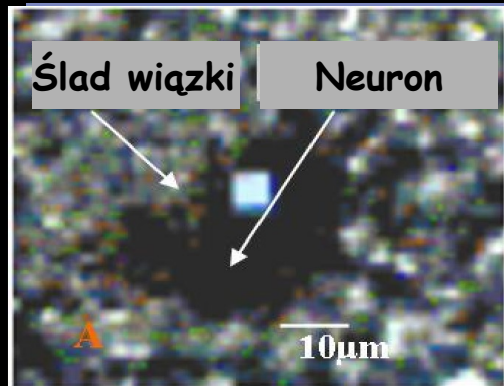
Widma absorpcyjne IR -istota czarna, kontrola



Widma absorpcyjne IR - istota czarna, kontrola $\Leftrightarrow$ PD



Istota czarna - Kontrola



białka (amid A)

20µm

3290

białka (amid B)

20µm

3063

lipidy

20µm

2955

lipidy

20µm

2924

utl. C=O

20µm

1735

białka (amid I)

20µm

1654

białka (amid II)

20µm

1544

kw. nukl.

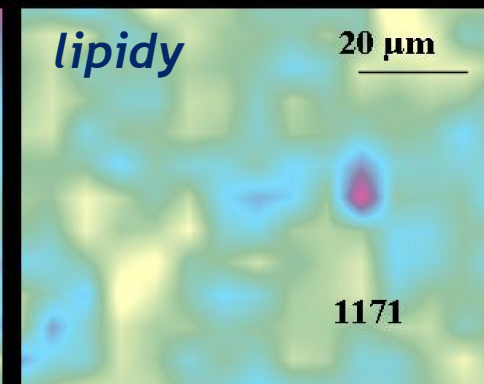
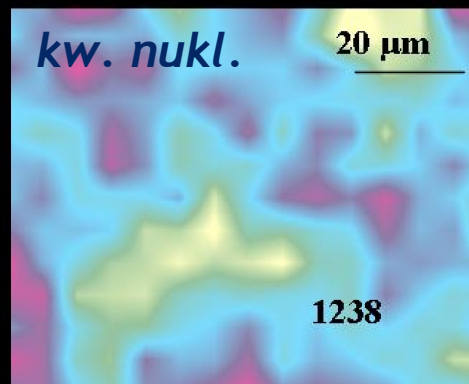
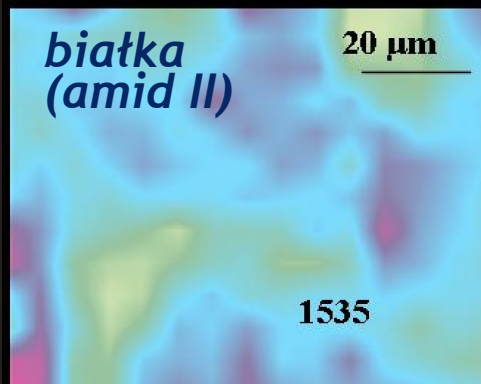
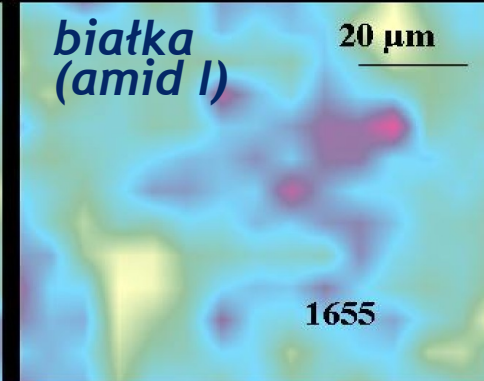
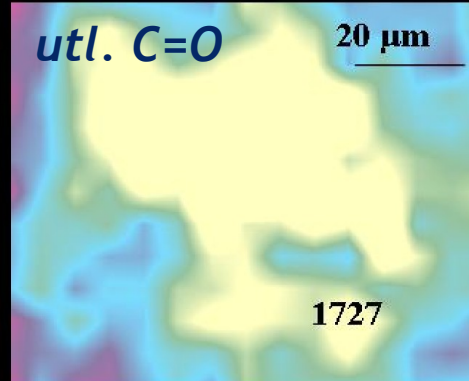
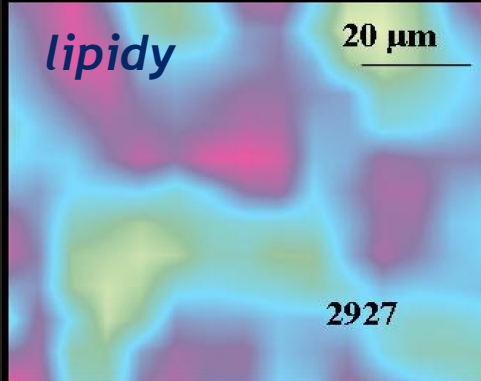
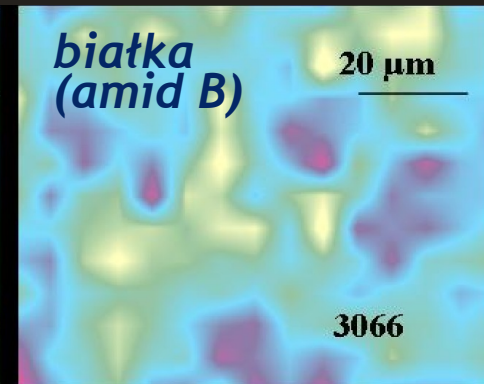
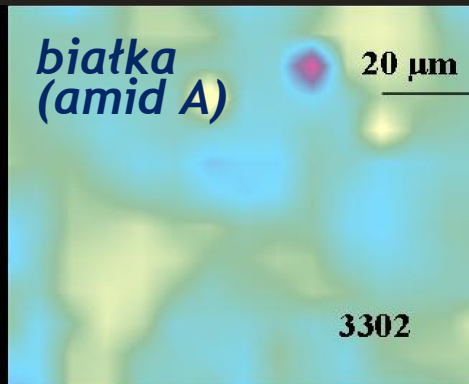
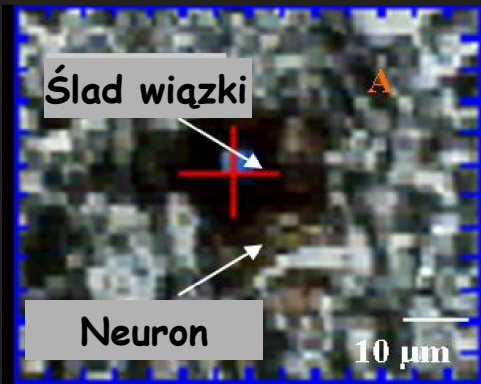
20µm

1238

min

max

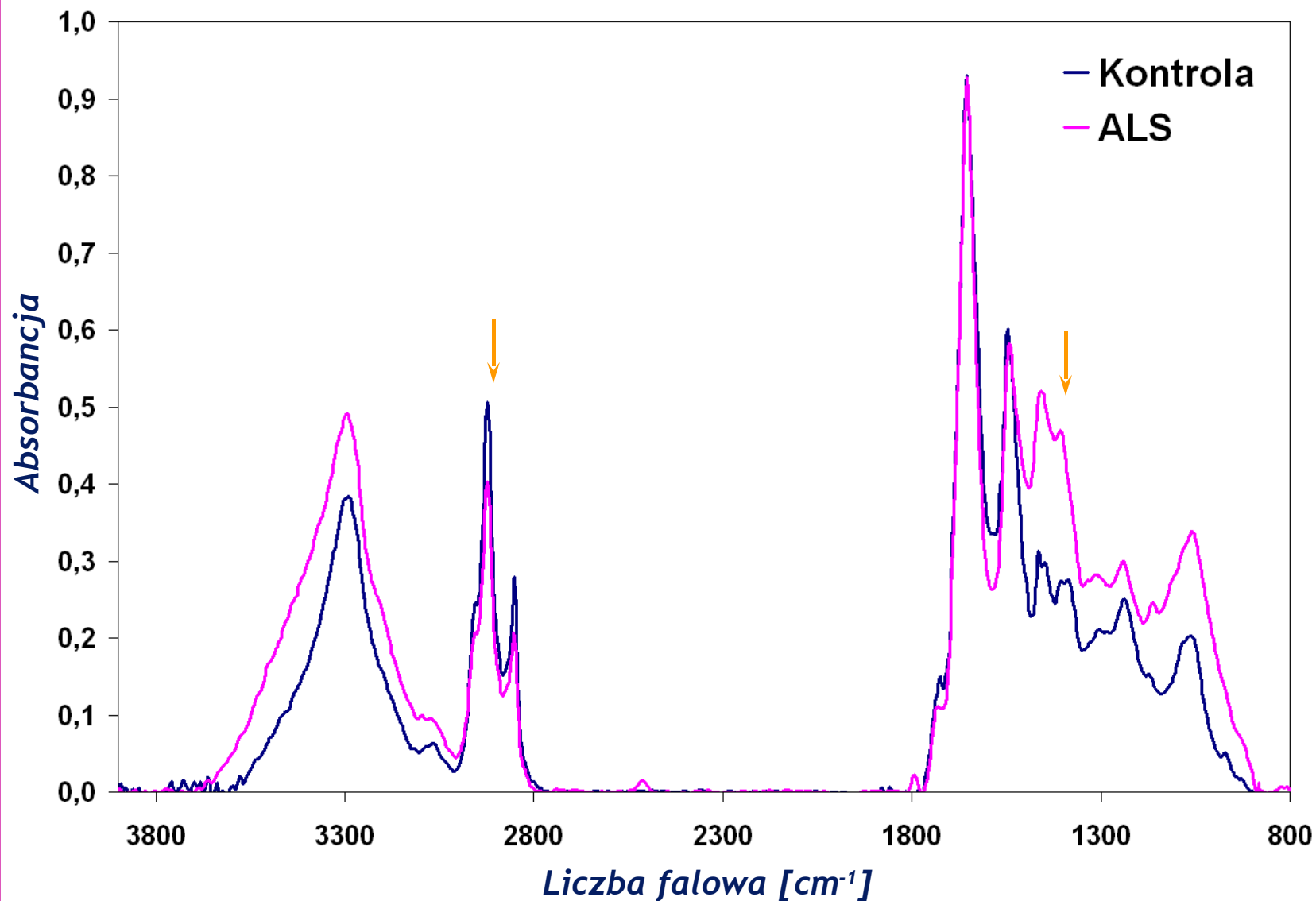
Istota czarna - ch. Parkinsona



min

max

Widma absorpcyjne IR - rdzeń kręgowy, kontrola $\Leftrightarrow$ ALS



Rdzeń kręgowy - Kontrola



*białka
(amid A)*

3290

10 μ m

lipidy

2955

10 μ m

utl. C=O

1740

10 μ m

*białka
(amid I)*

1654

10 μ m

*białka
(amid II)*

1544

10 μ m

kw. nukl.

1238

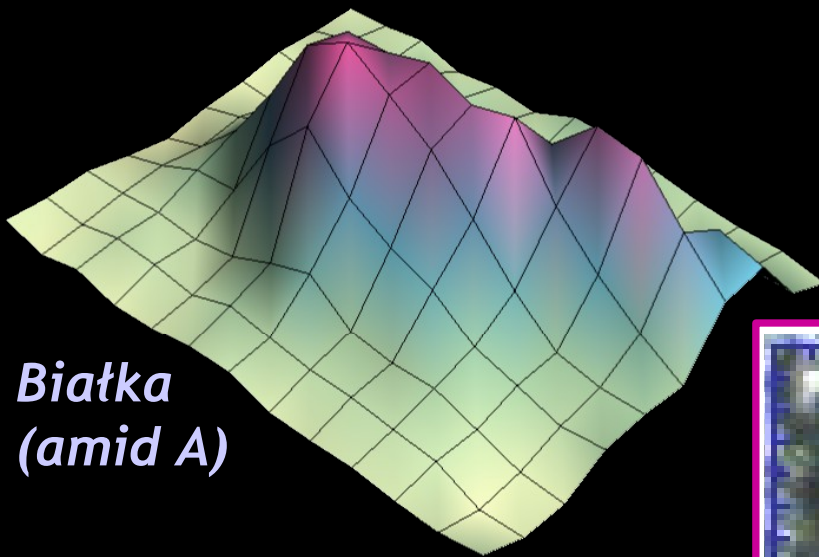
10 μ m

kw. nukl.

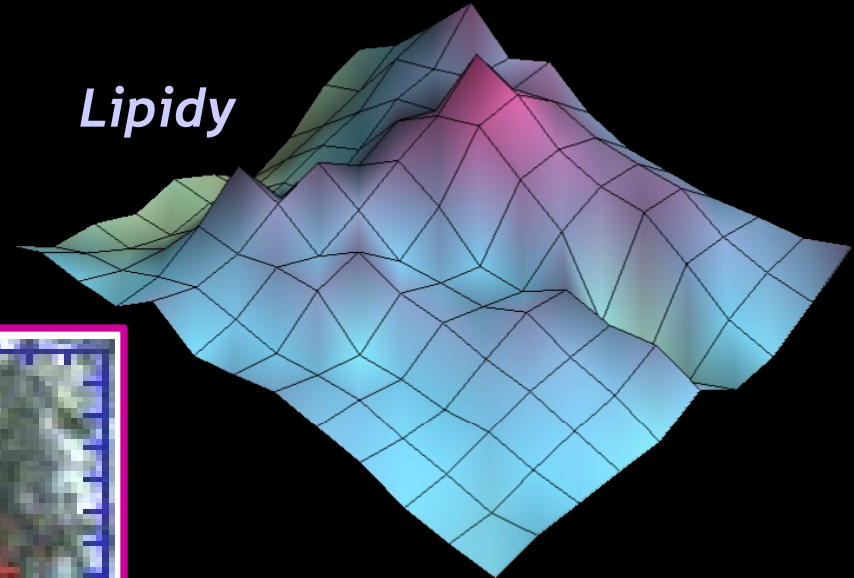
1086

10 μ m

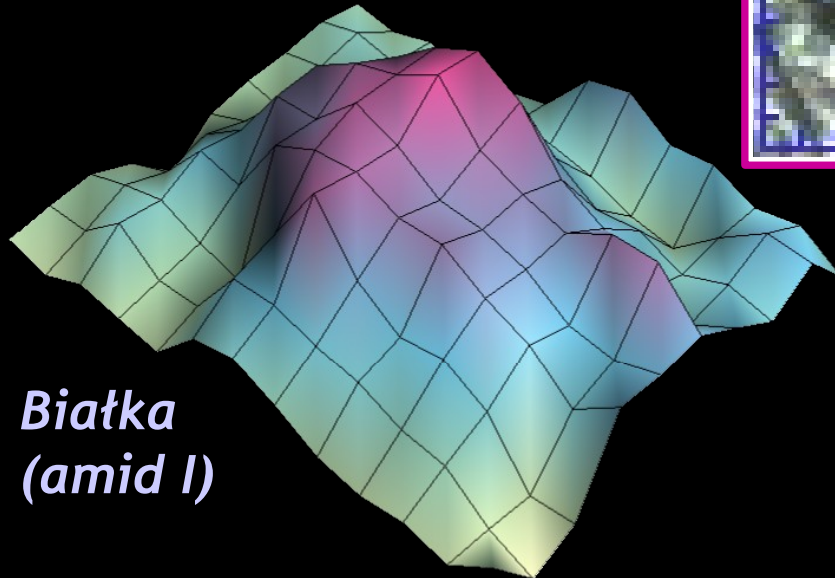
Rdzeń kręgowy - Kontrola (3D)



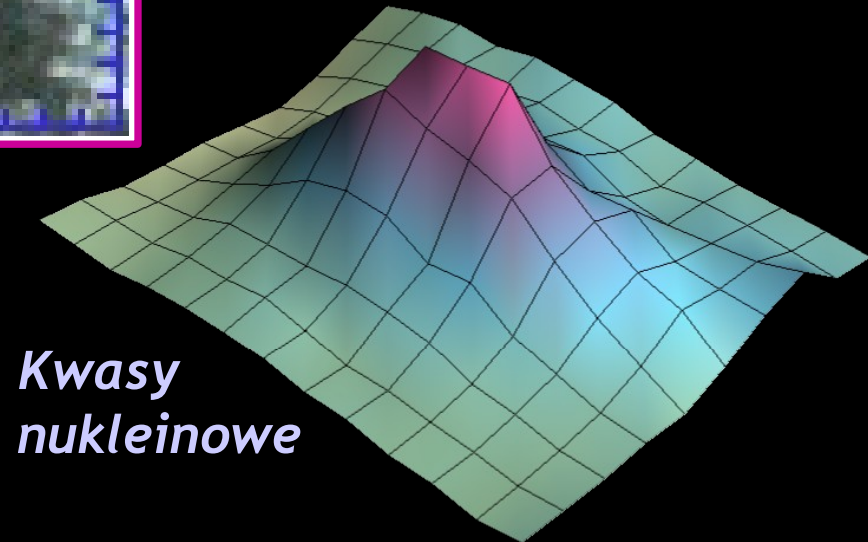
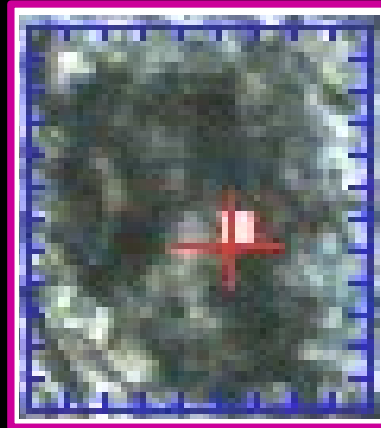
*Białka
(amid A)*



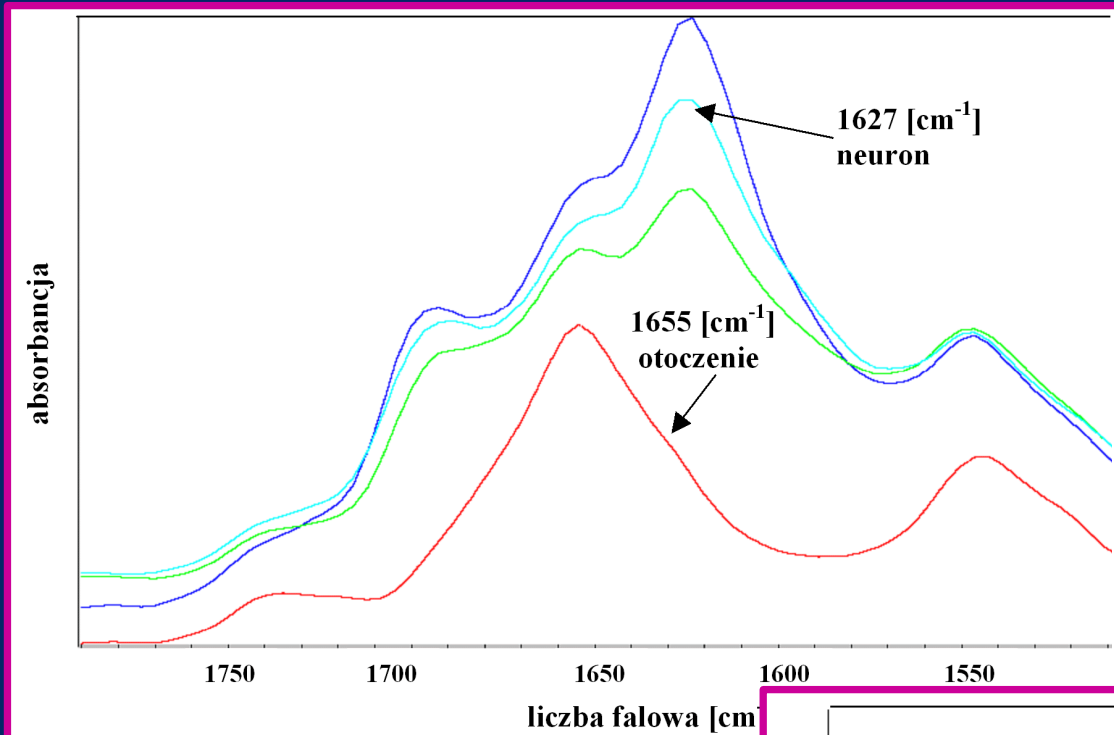
Lipidy



*Białka
(amid I)*

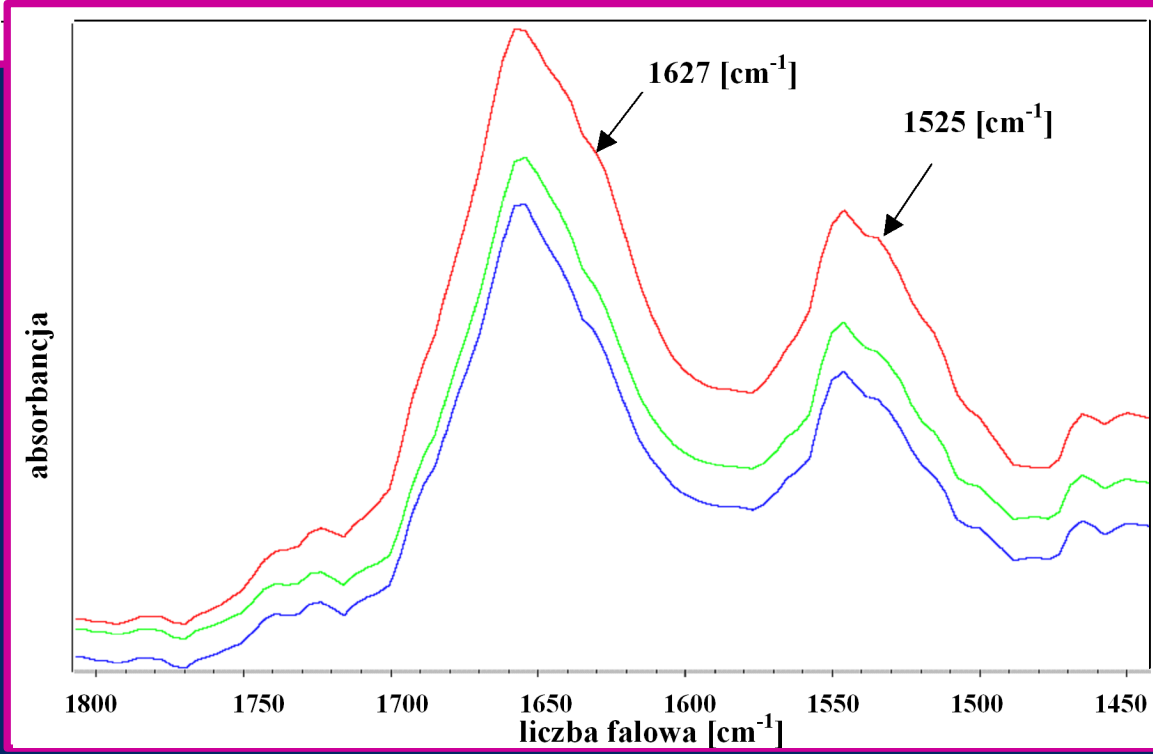


*Kwasy
nukleinowe*



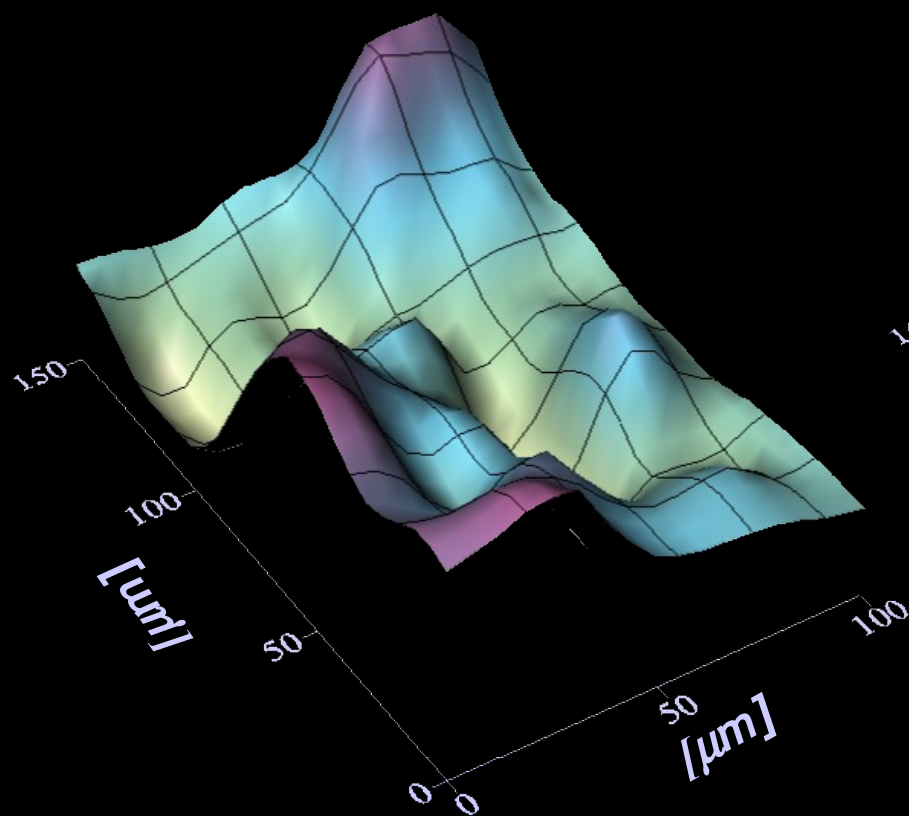
ALS: silne pasmo przy
1627 cm⁻¹ ⇒ obecność
struktury drugorzędowej
β białek w neuronie

Kontrola

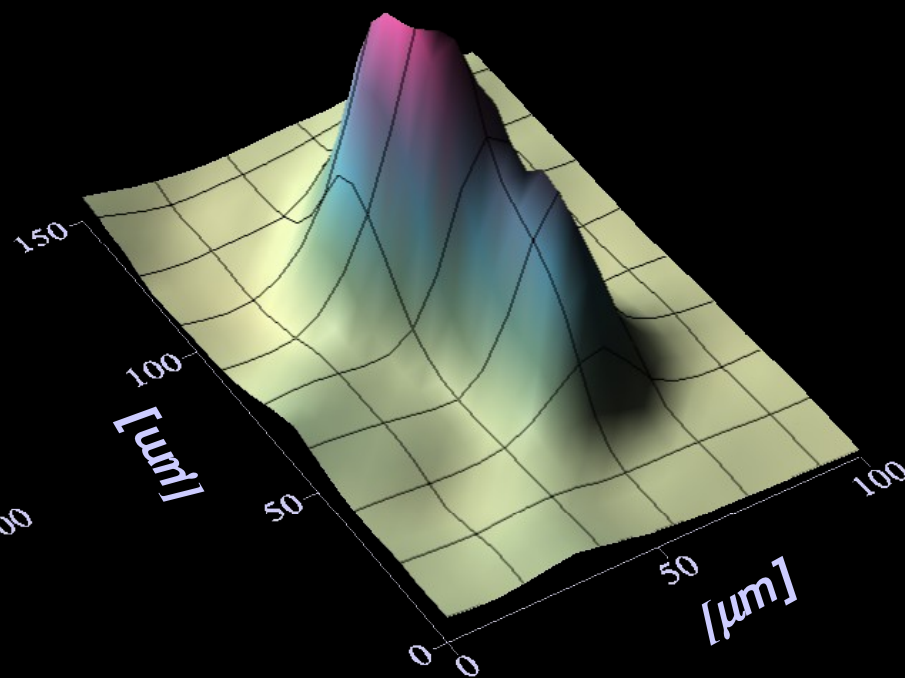


Rdzeń kręgowy - ALS, amid I (3D)

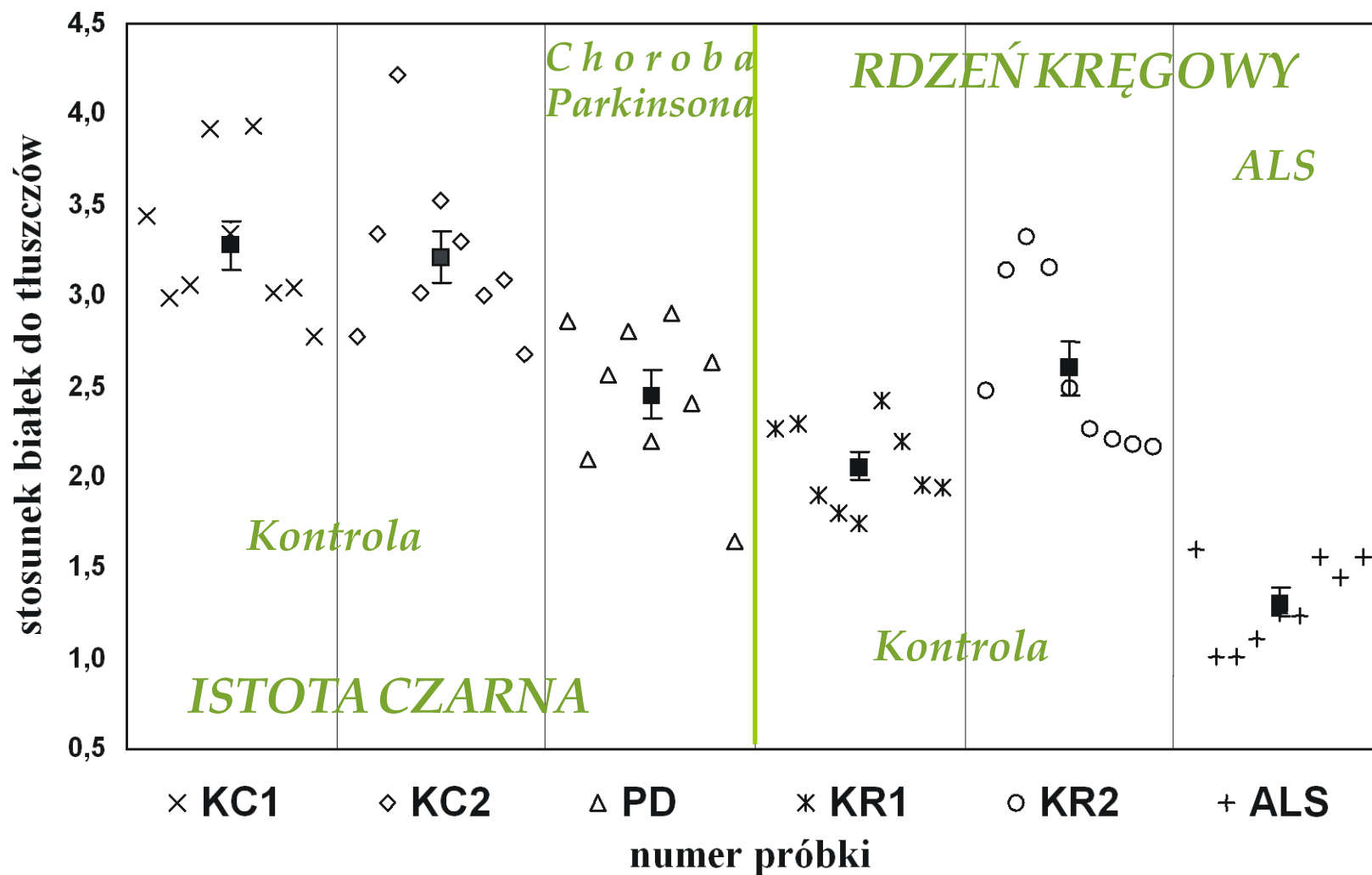
1655 cm^{-1} ,
struktura α



1627 cm^{-1} ,
struktura β

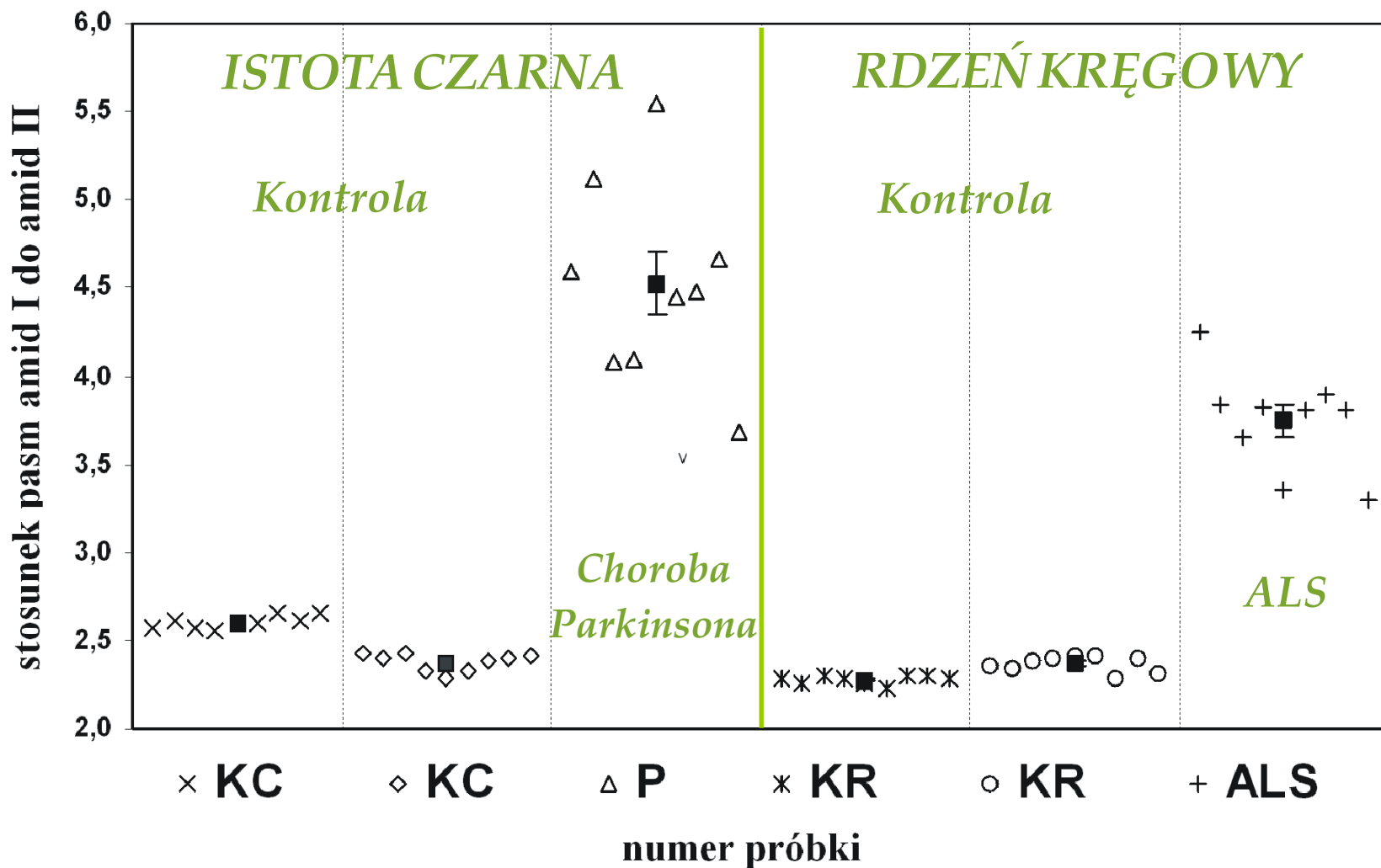


FT-IR; Udział białek do tłuszczów



Wartości stosunku intensywności pasm absorpcyjnych białek (amid I) do tłuszczów ($2800-3000\text{ cm}^{-1}$) w neuronach istoty czarnej i rdzenia kręgowego.

FT-IR; Udział amidu I do amidu II



Wartości stosunku intensywności pasm absorpcyjnych amidu I do amidu II w neuronach istoty czarnej i rdzenia kręgowego.

FT-IR; podsumowanie wyników badań

Grupa kontrolna

- Silniejsze gromadzenie grup białkowych i kwasów nukleinowych w obrębie neuronów istoty czarnej grupy kontrolnej;*
- Tendencja grup tłuszczowych do gromadzenia w obrębie neuronu, jednak o rozkładzie zdecydowanie odmiennym niż grupy białkowe;*
- Lokalizacja wiązania C=O fosfolipidów na zewnątrz ciała neuronu (mielina produkowana przez oligodendrocyty, podwójna błona komórkowa komórek glejowych) tylko neurony istoty czarnej;*

Ch. Parkinsona

- Wzrost intensywności pasma przy 1173 cm^{-1} (wiązanie rozciągające asymetryczne -CO-O-C) - podobnie jak w danych literaturowych dotyczących komórek apoptotycznych;*

Ch. Parkinsona, c.d.

1. Poszerzenie pasma amidu I i przesunięcie w kierunku wyższych częstotliwości, jak również zmniejszenie intensywności pasma amidu I do amidu II - typowe dla degeneracji amidu drugorzędowego do pierwszorzędowego;
2. Znaczące zmniejszenie intensywności pasm pochodzących od kwasów nukleinowych (1280 i 1086 cm^{-1}) - udział czynnika genetycznego???
3. Zmiany w obrębie grup lipidowych (2930 , 2850 , 1380 cm^{-1}) sugerujące zmiany w błonach biologicznych;
4. Brak korelacji pomiędzy pozycją neuronu a wzrostem intensywności pasm absorpcyjnych bimolekuł, obserwowany dla grupy kontrolnej;
5. Obecność neuronów w obrazie morfologicznym i brak odzwierciedlenia tego w obrazie IR sugeruje zaburzenia prawidłowego funkcjonowania neuronów występujące przed atrofią komórek.
6. Zmiany w obrębie różnych typów biomolekuł mogą potwierdzać multietiologiczny charakter ch. Parkinsona;

FT-IR; podsumowanie wyników badań

Stwardnienie boczne zanikowe

- *Zwiększenie stosunku intensywności pasma amidu I do amidu II (obniżenie intensywności pasma amidu II) - zmiany typowe przy przejściu od amidu drugorzędowego do pierwszorzędowego;*
- *Zmniejszenie intensywności pasm pochodzących od białek w stosunku do lipidów (1655 cm^{-1} / 2930 cm^{-1});*
- *We wszystkich przypadkach ALS wzrost intensywności pasma przy 1380 cm^{-1} (CH_3 zgin. sym.), pochodzącego od kwasów tłuszczowych; sugeruje zmiany stanu błon komórkowych;*

***SYNCHROTRONOWA
RENTGENOWSKA MIKROANALIZA
FLUORESCENCYJNA (SR-XRF)***

SR-XRF, XANES; Ośrodki badawcze



ESRF, Grenoble:

Linie pomiarowe: ID 21, ID 22

HASYLAB, Hamburg:

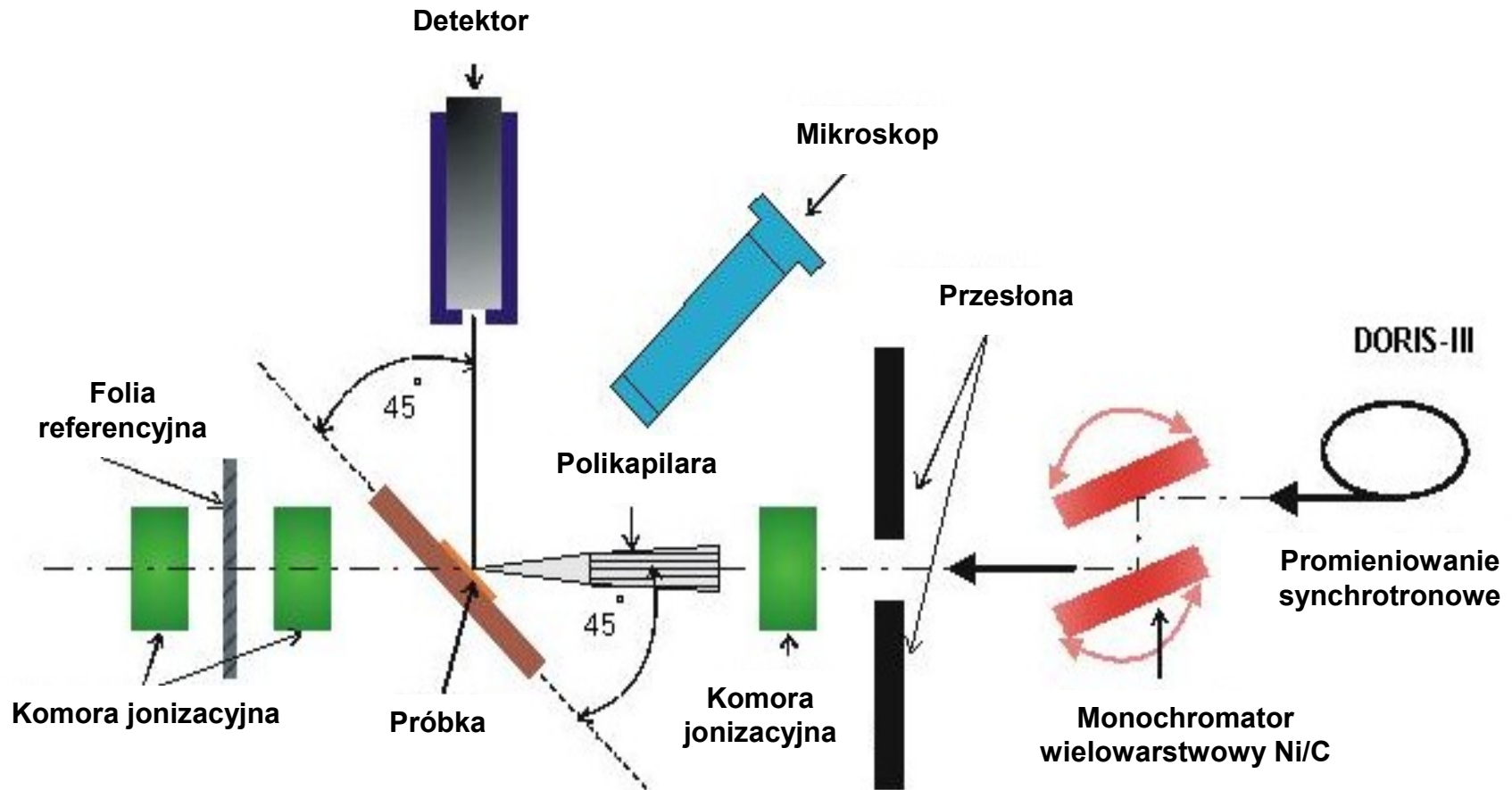
Linia pomiarowa: L



SR-XRF; Zalety metody

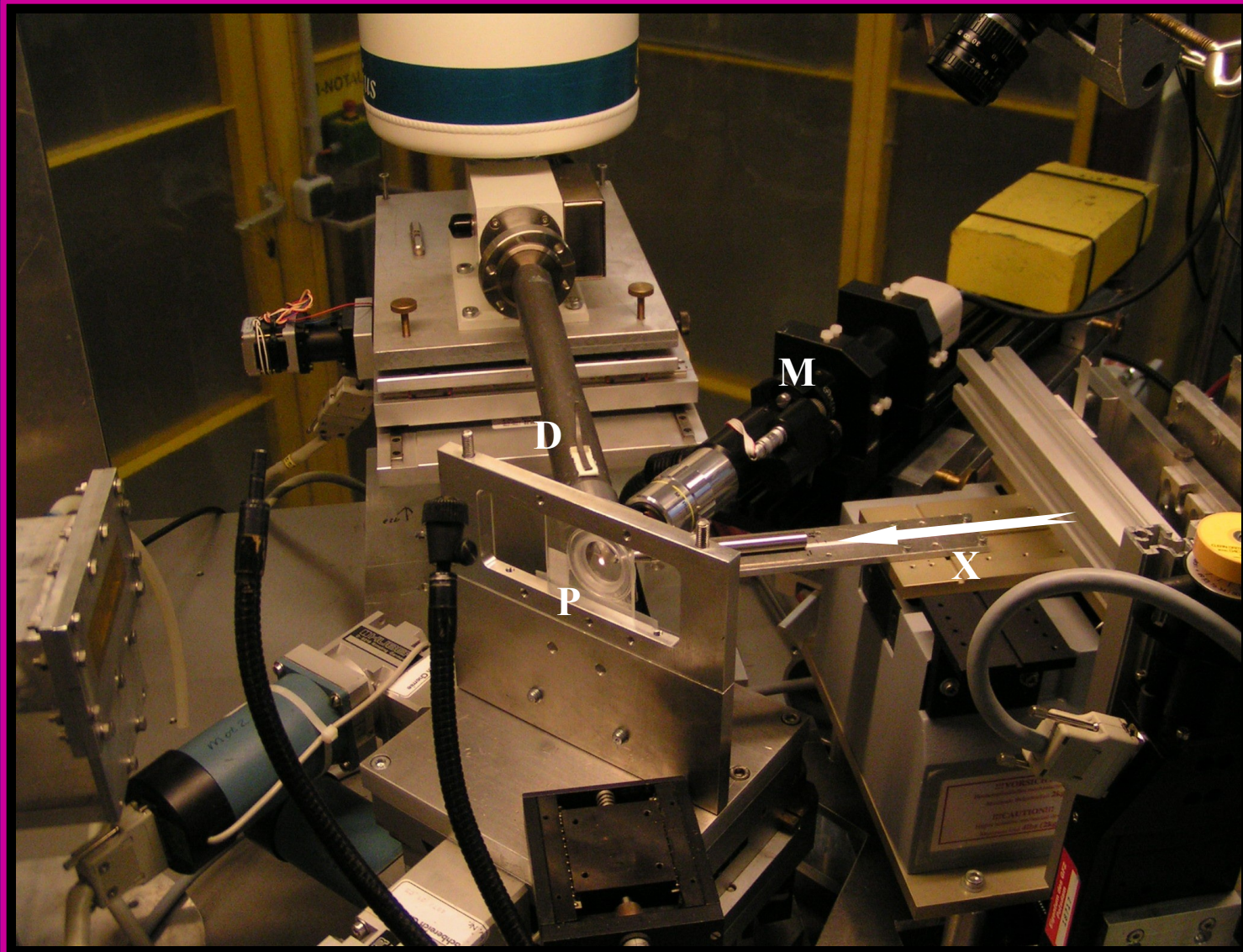
- 👉 *Monochromatyczna wiązka promieniowania synchrotronowego (17 keV);*
- 👉 *Wykrywalność pierwiastków na poziomie mg/kg;*
- 👉 *Rozmiar wiązki : 0.5 ÷ 15 μm (ogniskowanie: ESRF - soczewki Fresnela, lustra Kirkpatrick-Baez'a; HASYLAB - polikapilara);*
- 👉 *Krótki czas pomiaru ~ 3 ÷ 10 s/punkt;*
- 👉 *Jednoczesna analiza wielu pierwiastków, od P;*
- 👉 *Możliwość powierzchniowego obrazowania zawartości pierwiastków w próbce;*
- 👉 *Brak uszkodzeń termicznych próbki;*
- 👉 *Brak efektu elektrycznego ładowania próbki.*

SR-XRF; Aparatura badawcza



Schemat układu pomiarowego stosowanego w pomiarach SR-XRF oraz XANES na linii L w HASYLAB

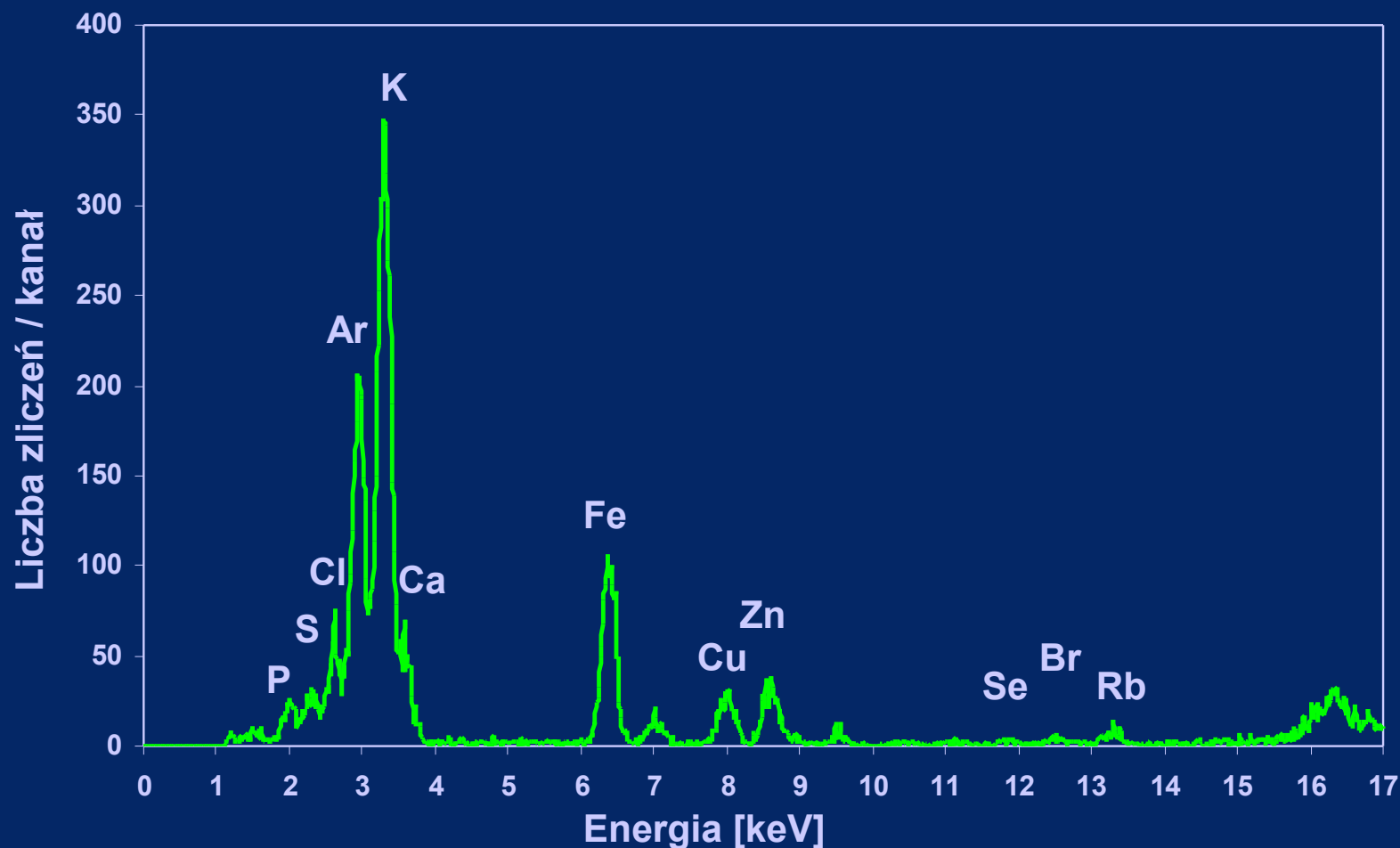
SR-XRF; Aparatura badawcza



P-próbka
M-mikroskop
D-detektor
X-kierunek
wiązki

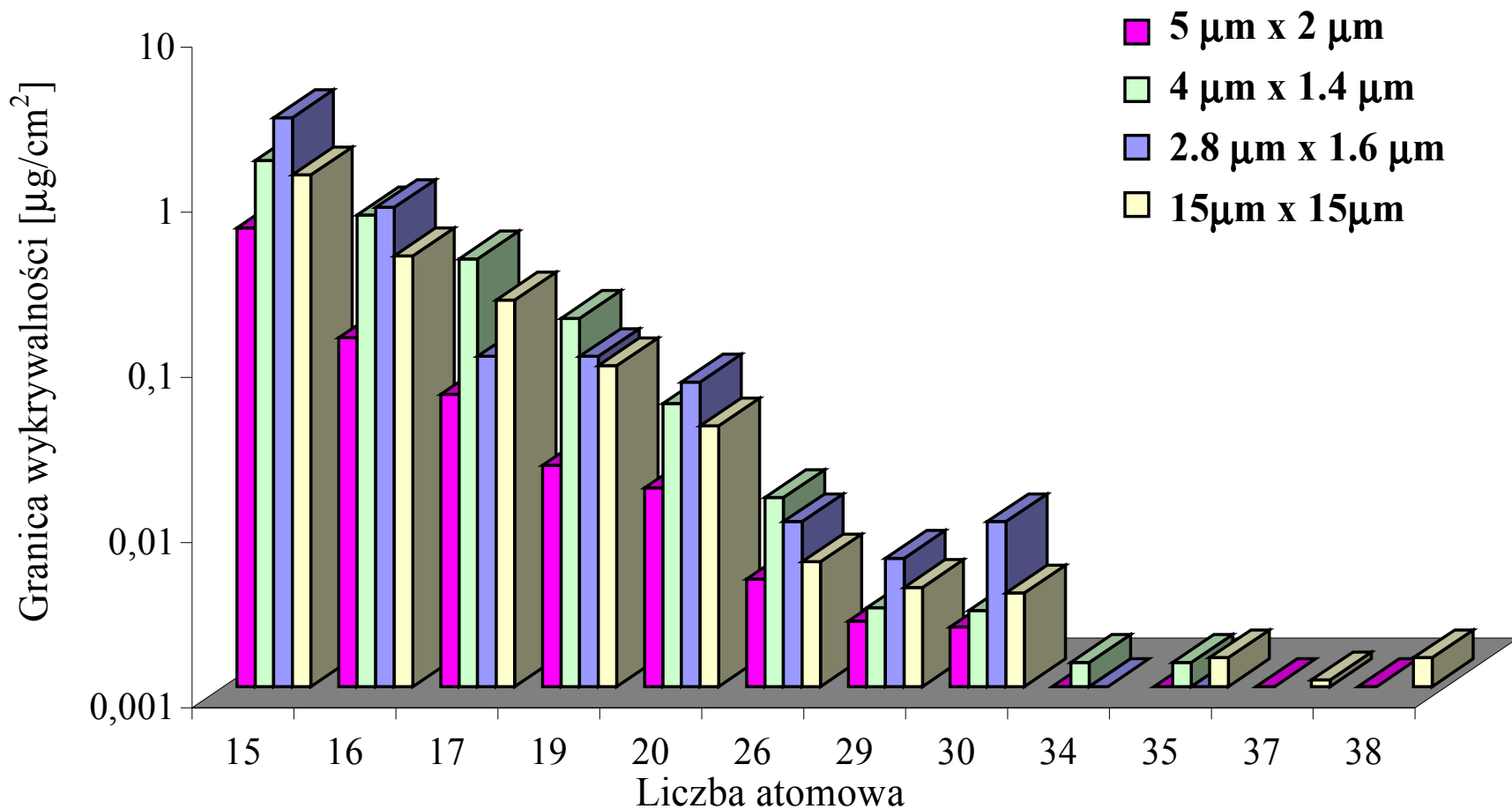
Zdjęcie układu pomiarowego, stosowanego w pomiarach SR-XRF oraz XANES na linii L w HASYLAB

SR-XRF; Istota czarna - widmo promieniowania



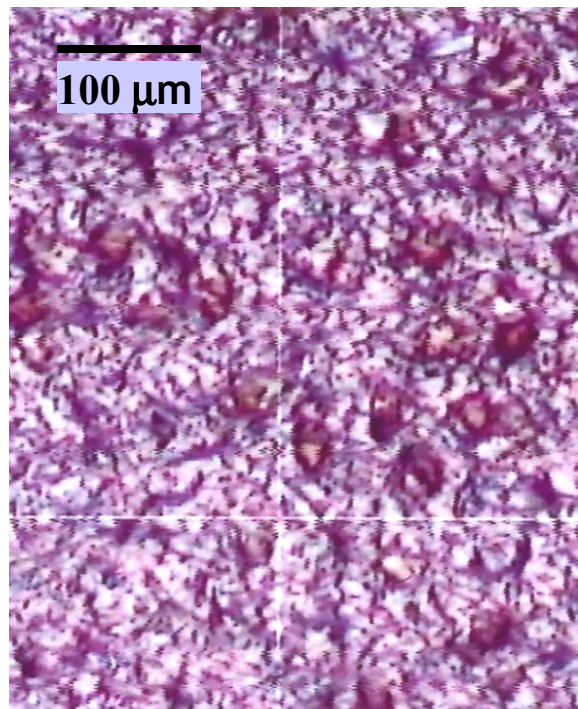
Widmo promieniowania X, wzbudzone w tkance istoty czarnej wiązką promieniowania synchrotronowego (czas pomiaru 3 s)

SR-XRF; Granice wykrywalności pierwiastków

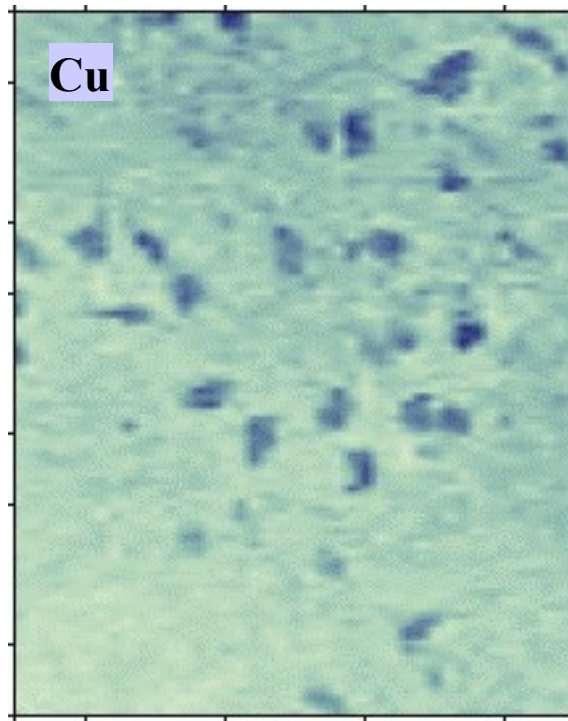


**Porównanie granic wykrywalności pierwiastków w tkance OUN
w zależności od rozmiarów wiązki wzbudzającej**

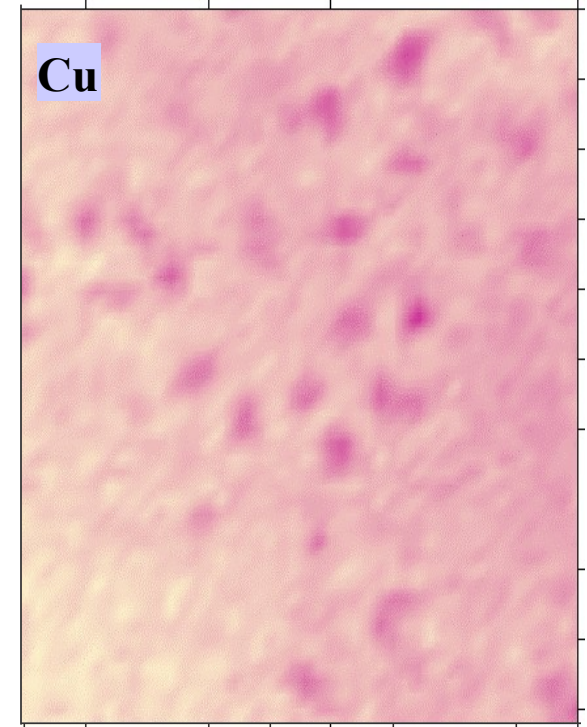
SR-XRF; Rozdzielczość przestrzenna



4 μm x 1.4 μm (ESRF)

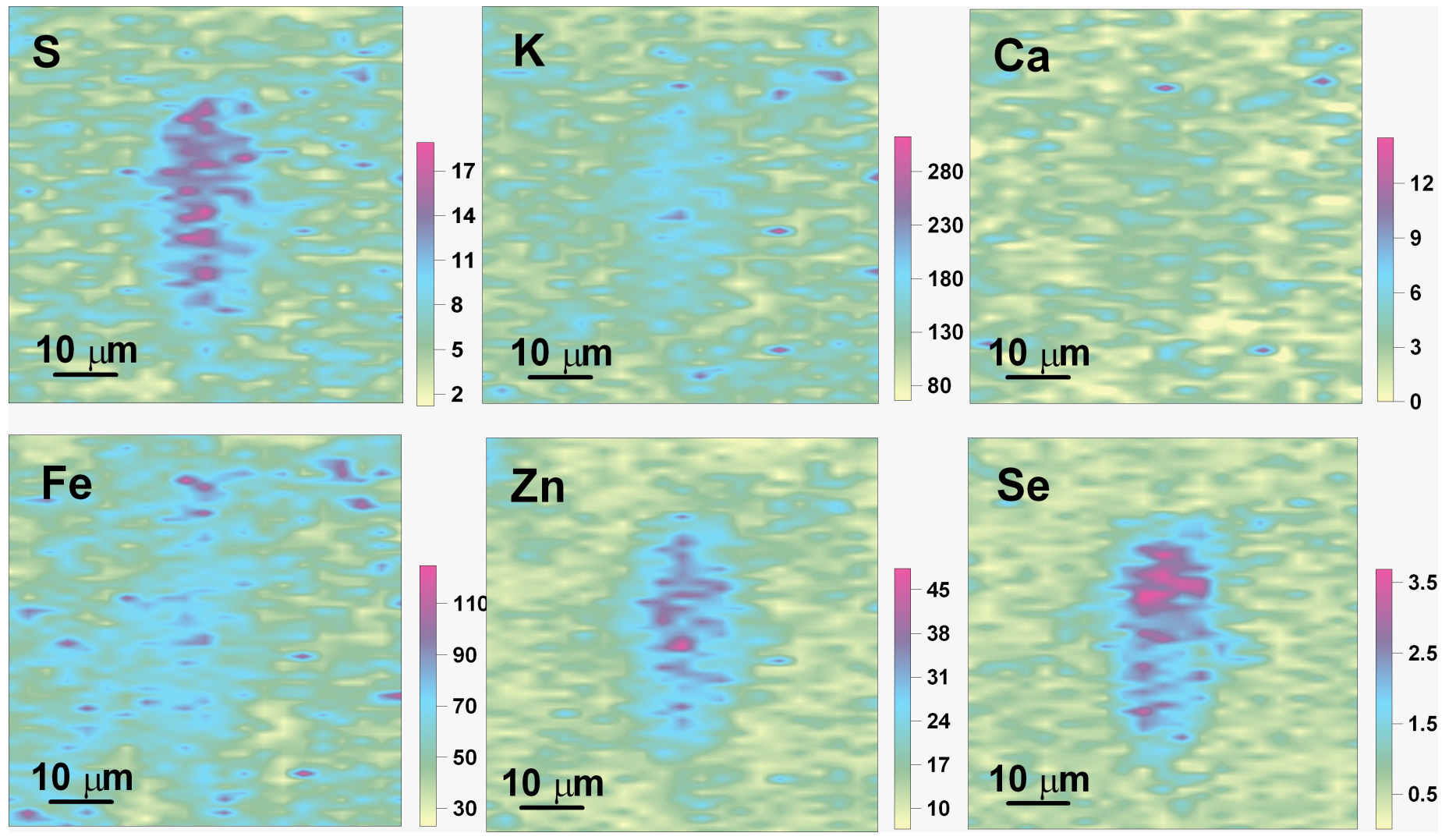


15 μm x 15 μm (HASYL.)



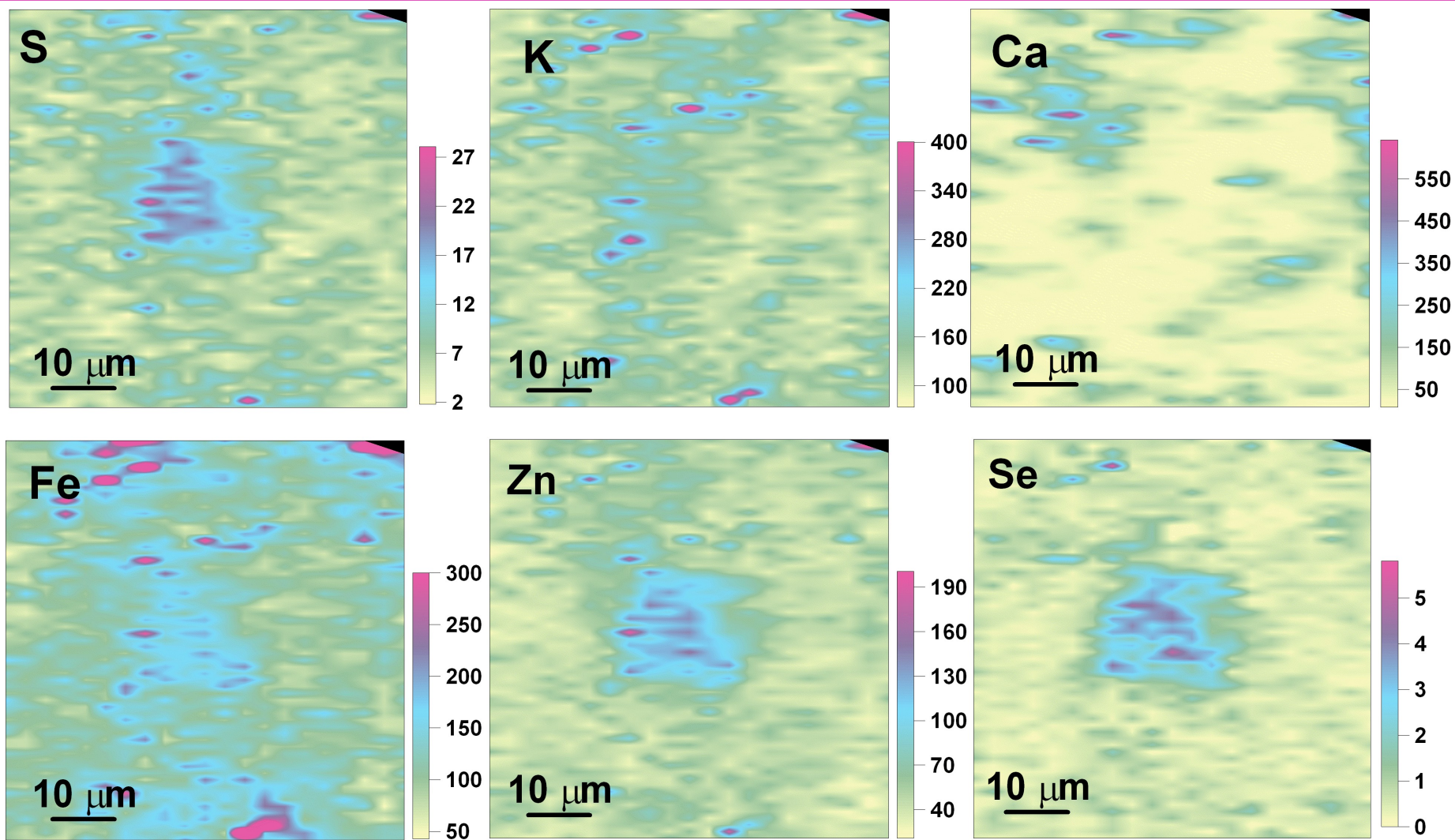
*Porównanie map rozkładu Cu w tkance istoty czarnej
w zależności od rozmiarów wiązki wzbudzającej*

SR-XRF; Istota czarna - kontrola



Mapy rozkładu wybranych pierwiastków w neuronie istoty czarnej dla przypadku kontrolnego (ESRF, 17 keV, 2.8 μm x 1.6 μm , 3s/pkt)

SR-XRF; Istota czarna - ch. Parkinsona



Mapy rozkładu wybranych pierwiastków w neuronie istoty czarnej dla przypadku ch. Parkinsona (ESRF, 17 keV, 2.8 μm x 1.6 μm , 3s/pkt)

SR-XRF; Analiza ilościowa - neurony istoty czarnej

MASY POWIERZCHNIOWE PIERWIASTKÓW [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]

	Grupa kontrolna*		PD
	Min (SD)	Max (SD)	Średnia (SD)
P	7.5 (0.9)	15.4 (0.6)	23 (1)
S	4.3 (0.7)	8.3 (0.8)	13.5 (0.7)
Cl	2.1 (0.2)	4.7 (0.2)	5.6 (0.5)
K	7.3 (0.6)	20.4 (0.5)	13.5 (1.4)
Ca	0.15 (0.02)	0.29 (0.01)	6 (1)
Fe	0.21 (0.03)	0.68 (0.07)	1.7 (0.2)
Cu	0.014 (0.002)	0.086 (0.005)	0.114 (0.007)
Zn	0.07 (0.01)	0.13 (0.01)	0.58 (0.08)
Se	0.0034 (0.0002)	0.0063 (0.0004)	0.008 (0.001)
Br	0.0032 (0.0003)	0.0143 (0.0005)	0.012 (0.001)

*Minimalne i maksymalne wartości (średnie z 9 neuronów) z 8 przypadków kontrolnych

SR-XRF; Analiza ilościowa - kora mózgowa

MASY POWIERZCHNIOWE PIERWIASTKÓW [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]

	Grupa kontrolna*		PD
	Min	Max	Średnia (SD)
P	7.6	10.4	12.10 (0.05)
S	2.2	2.9	2.74 (0.01)
Cl	1.9	3.1	5.7 (0.1)
K	4.3	5.7	7.1 (0.1)
Ca	<DL**	0.08	0.196 (0.001)
Fe	0.10	0.12	0.089 (0.001)
Cu	<DL	0.013	0.014 (0.001)
Zn	0.02	0.04	0.068 (0.001)
Se	<DL	<DL	<DL
Br	0.002	0.009	0.011 (0.001)

*Minimalne i maksymalne wartości (średnie) dla 5 przypadków kontrolnych

**Poniżej granicy detekcji

SR-XRF; Analiza ilościowa - istota biała

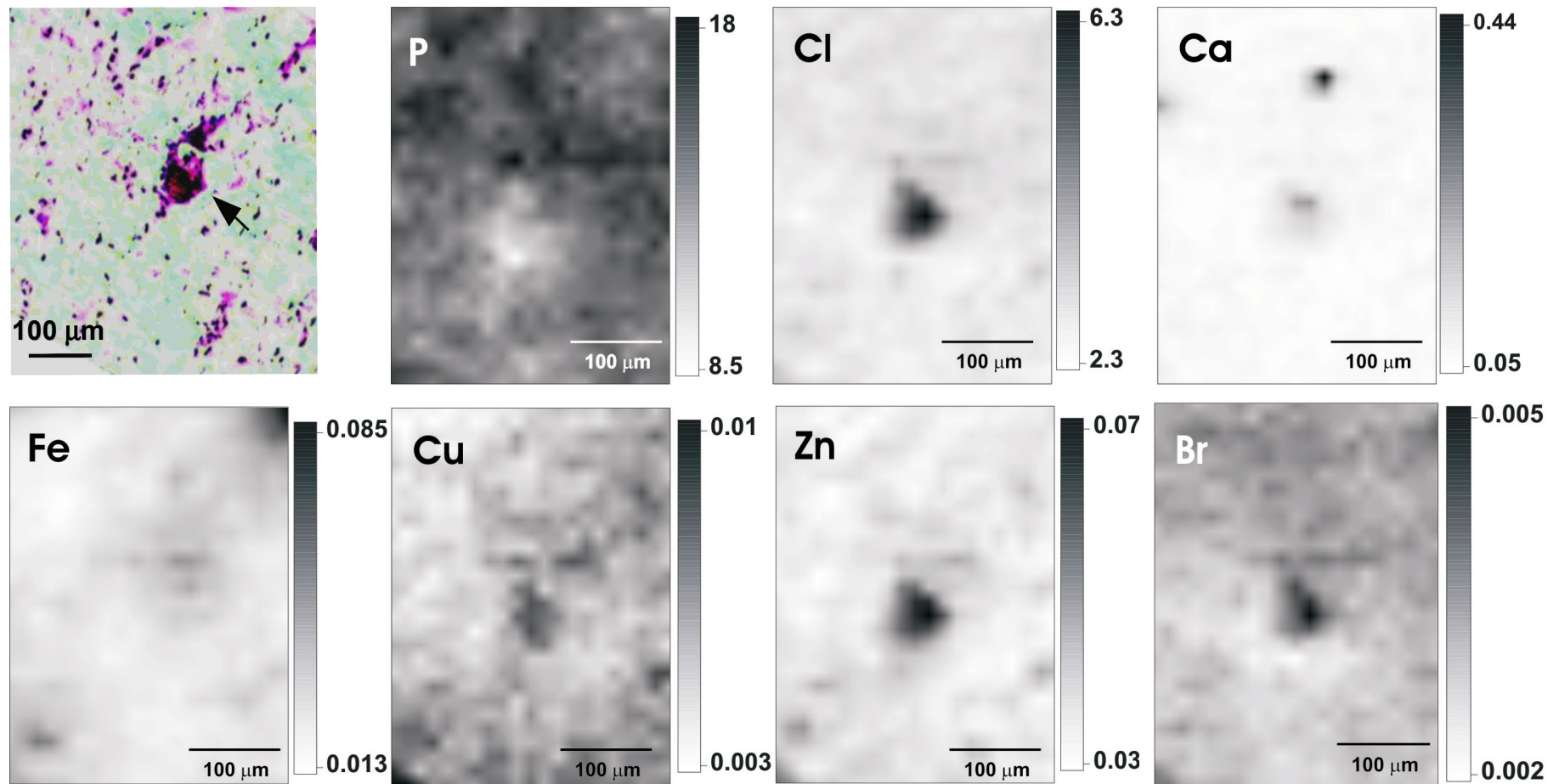
MASY POWIERZCHNIOWE PIERWIASTKÓW [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]

	Grupa kontrolna*		PD
	Min	Max	Średnia(SD)
P	12.9	16.0	16.1 (0.1)
S	2.5	3.3	3.81 (0.04)
Cl	1.7	2.6	2.86 (0.03)
K	3.8	14.25	7.0 (0.2)
Ca	<DL**	0.13	3.7 (0.4)
Fe	0.06	0.08	0.430 (0.005)
Cu	<DL	0.018	0.032 (0.001)
Zn	<DL	0.02	0.149 (0.002)
Se	<DL	<DL	<DL
Br	<DL	0.008	0.004 (0.001)

* Minimalne i maksymalne wartości z 8 przypadków kontrolnych

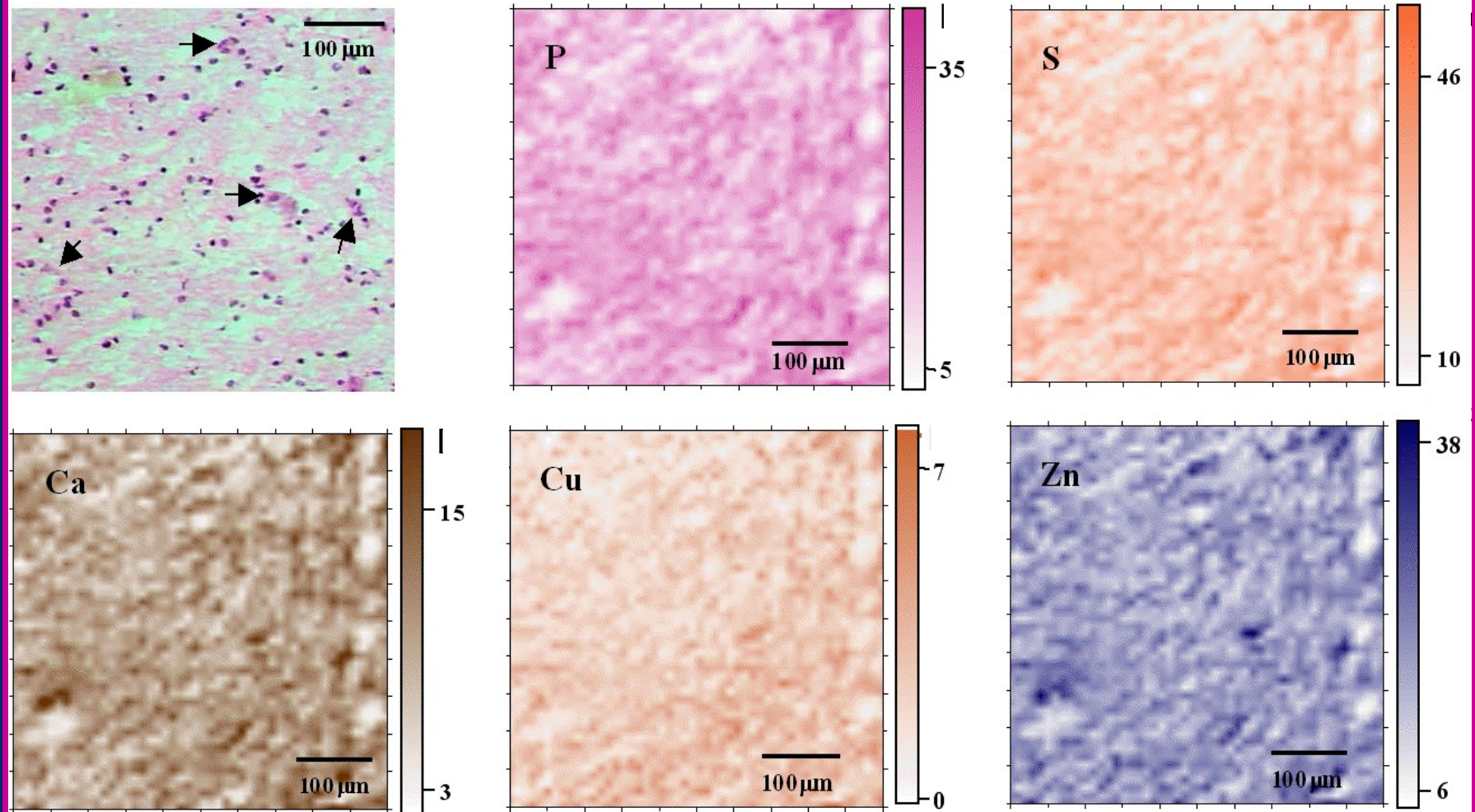
**Poniżej granicy wykrywalności

SR-XRF; Rdzeń kręgowy - kontrola



Mapy rozkładu wybranych pierwiastków w neuronie istoty czarnej dla przypadku ch. Parkinsona (ESRF, 17 keV, 5 μm x 2 μm , 3s/pkt)

SR-XRF; Rdzeń kręgowy - ALS



Mapy rozkładu wybranych pierwiastków w neuronie istoty czarnej dla przypadku ch. Parkinsona (ESRF, 17 keV, 5 μm x 2 μm , 3s/pkt)

SR-XRF; Analiza ilościowa - rdzeń kręgowy

MASY POWIERZCHNIOWE PIERWIASTKÓW [$\mu\text{g}/\text{cm}^2$]

	Grupa kontrolna [♦] Min (SD) – Max (SD)	ALS (1) [♥]	ALS (2)	ALS (3)
P	13.0 (0.9) – 15 (1)	7.8 (0.5) – 21 (1)	20 (1)	8.9 (0.6)
S	4.9 (0.3) – 6.1 (0.4)	3.1 (0.2) - 5.9 (0.4)	4.0 (0.3)	3.7 (0.2)
Cl	6.4 (0.4) - 9.6 (0.6)	3.9 (0.2) - 9.3 (0.6)	5.6 (0.3)	7.0 (0.4)
K	3.7 (0.2) – 6.0 (0.4)	3.4 (0.2) - 6.2 (0.4)	11.2 (0.7)	3.9 (0.2)
Ga	0.24 (0.01) - 0.36 (0.02)	0.18 (0.01) - 0.39 (0.02)	17 (1)	0.44 (0.03)
Fe	0.029 ($2 \cdot 10^{-3}$) - 0.101 ($6 \cdot 10^{-3}$)	0.033 ($2 \cdot 10^{-3}$) - 0.055 ($3 \cdot 10^{-3}$)	1.6 (0.1)	0.092 ($6 \cdot 10^{-3}$)
Cu	0.0072 ($5 \cdot 10^{-4}$) - 0.0084 ($6 \cdot 10^{-4}$)	0.0053 ($4 \cdot 10^{-4}$) - 0.0071 ($5 \cdot 10^{-4}$)	0.0070 ($5 \cdot 10^{-4}$)	< DL [♠]
Zn	0.063 ($4 \cdot 10^{-3}$) - 0.081 ($5 \cdot 10^{-3}$)	0.0050 ($3 \cdot 10^{-4}$) - 0.071 ($4 \cdot 10^{-3}$)	0.18 (0.01)	0.068 ($4 \cdot 10^{-3}$)
Br	0.0051 ($3 \cdot 10^{-4}$) - 0.020 ($1 \cdot 10^{-3}$)	0.0054 ($3 \cdot 10^{-4}$) - 0.019 ($1 \cdot 10^{-3}$)	0.0080 ($5 \cdot 10^{-4}$)	0.020 ($1 \cdot 10^{-3}$)

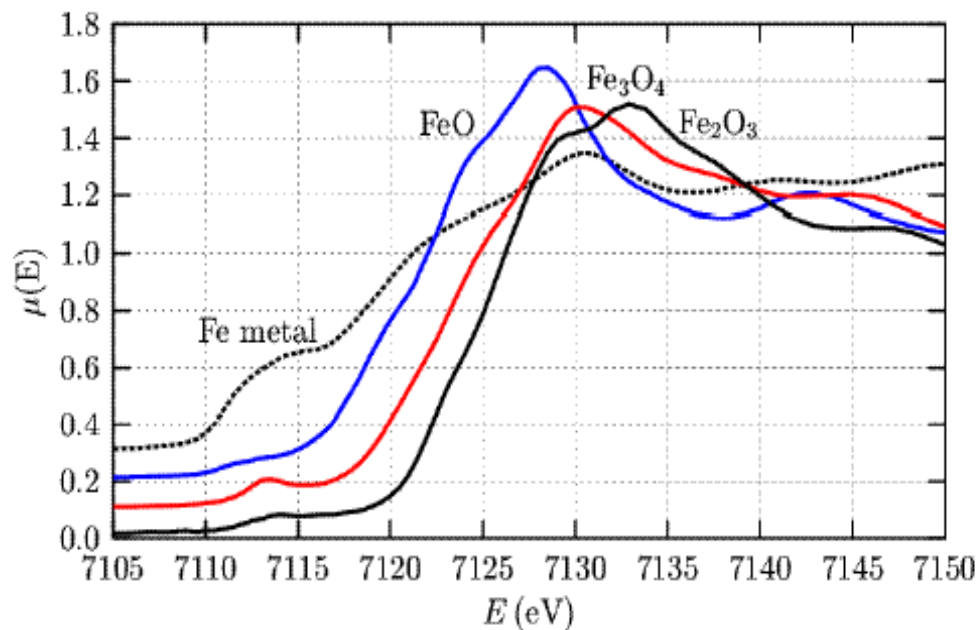
♦ dane z 5 przypadków; ♥ dane z 5 neuronów; ♠ poniżej granicy wykrywalności;

SR-XRF; Podsumowanie badań

1. *Stwierdzono obecność P, S, Cl, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Se, Br, Rb i Sr w tkance OUN.*
2. *Rozkłady mas powierzchniowych pierwiastków wykazują zróżnicowanie w obrębie komórek nerwowych.*
3. *Wyższe masy powierzchniowe Ca, Fe i Zn zaobserwowano w ciałach komórek nerwowych Ca, Fe, Cu i Zn w istocie białej, natomiast Ca, Cl i Zn w korze mózgowej dla przypadku ch. Parkinsona w porównaniu z grupą kontrolną.*
4. *Dla próbki istoty czarnej reprezentującej przypadek PD stwierdzono silną akumulację Fe i Ca w strukturach nieidentyfikowanych histopatologicznie.*
5. *W badaniach ALS nie stwierdzono jednoznacznych anomalii w gromadzeniu danego pierwiastka. Stwierdzono jedynie indywidualne różnice pomiędzy przypadkami ALS a kontrolą.*

***SPEKTROSKOPIA ABSORPCJI
PROMIENIOWANIA X W POBLIŻU
KRAWĘDZI ABSORPCJI (XANES)***

XANES; Podstawy techniki

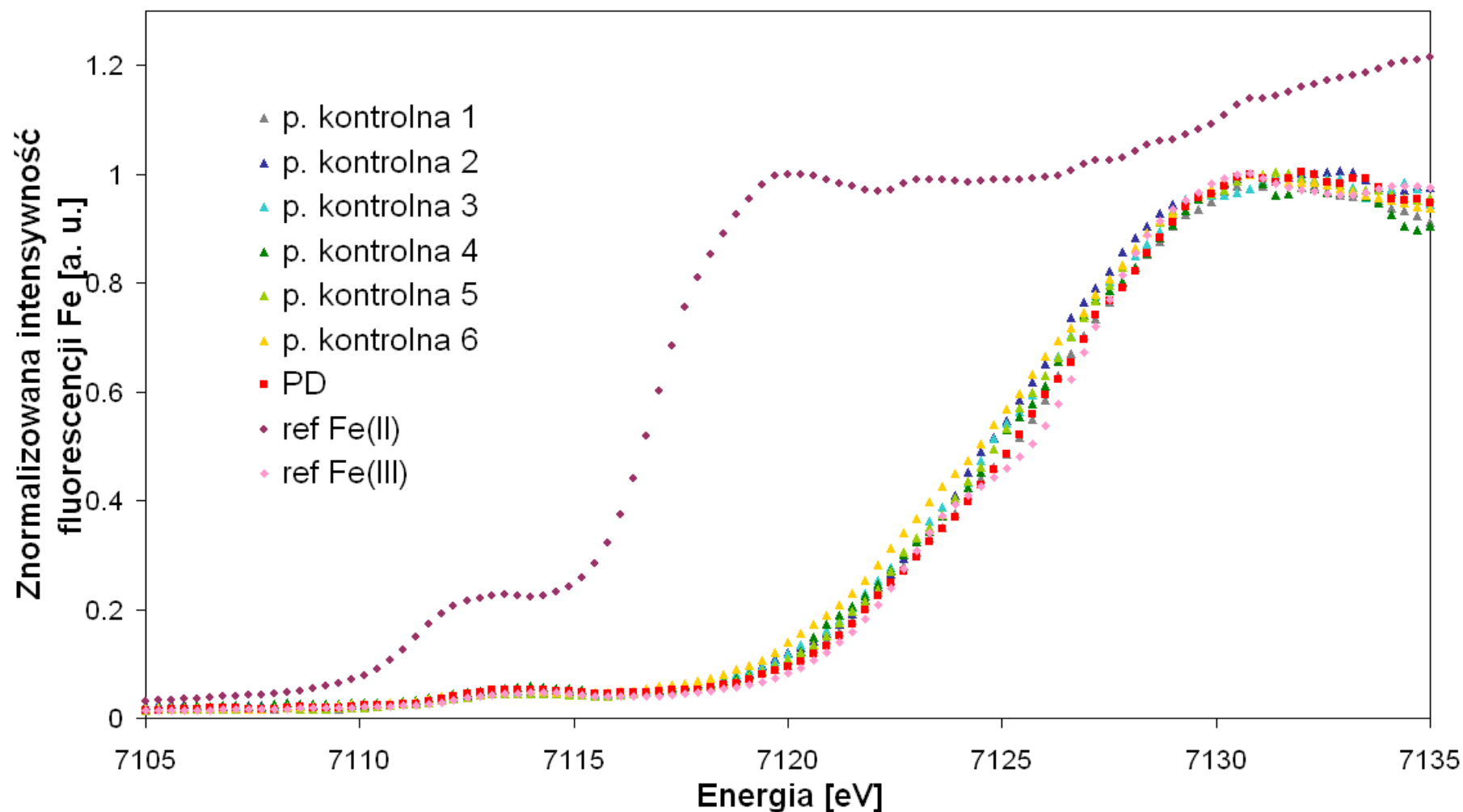


Informacje uzyskiwane z widma XANES (30 eV przed: 50 eV)

- *stopień utlenienia absorbującego atomu (krawędź i pre-pik)*
- *symetria związku - ośmiościenna, czworościenna (pre-pik)*

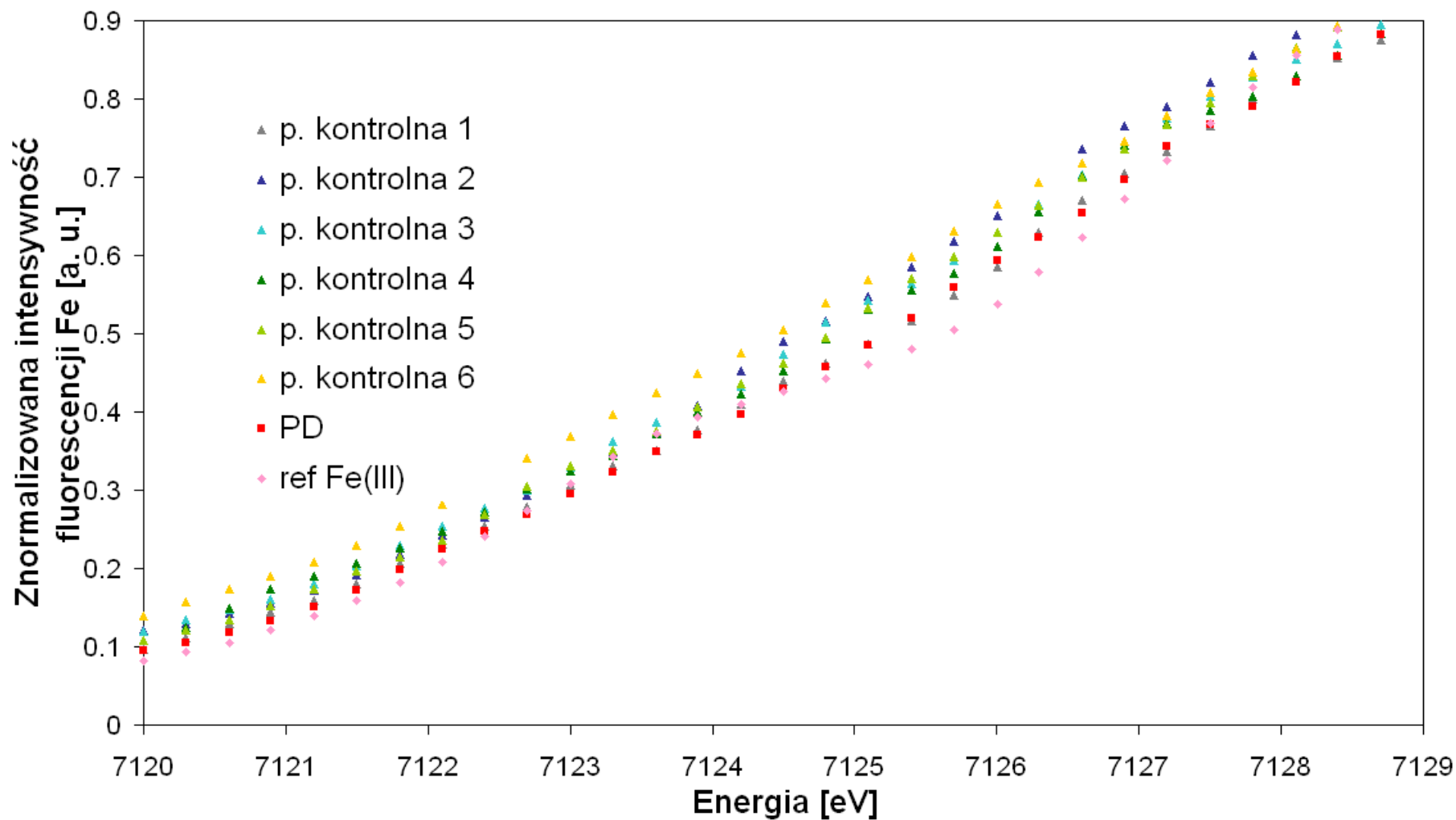
1. *Im wyższy stopień utlenienia pierwiastka, tym większe przesunięcie krawędzi absorpcji w kierunku wyższych energii (zależność liniowa).*
3. *Przesunięcie krawędzi - rzędu kilku eV na jeden stopień utlenienia.*
5. *Przesunięcie pik przedkrawędziowego - dziesiąte eV na jeden stopień utlenienia.*

XANES; Fe - istota czarna



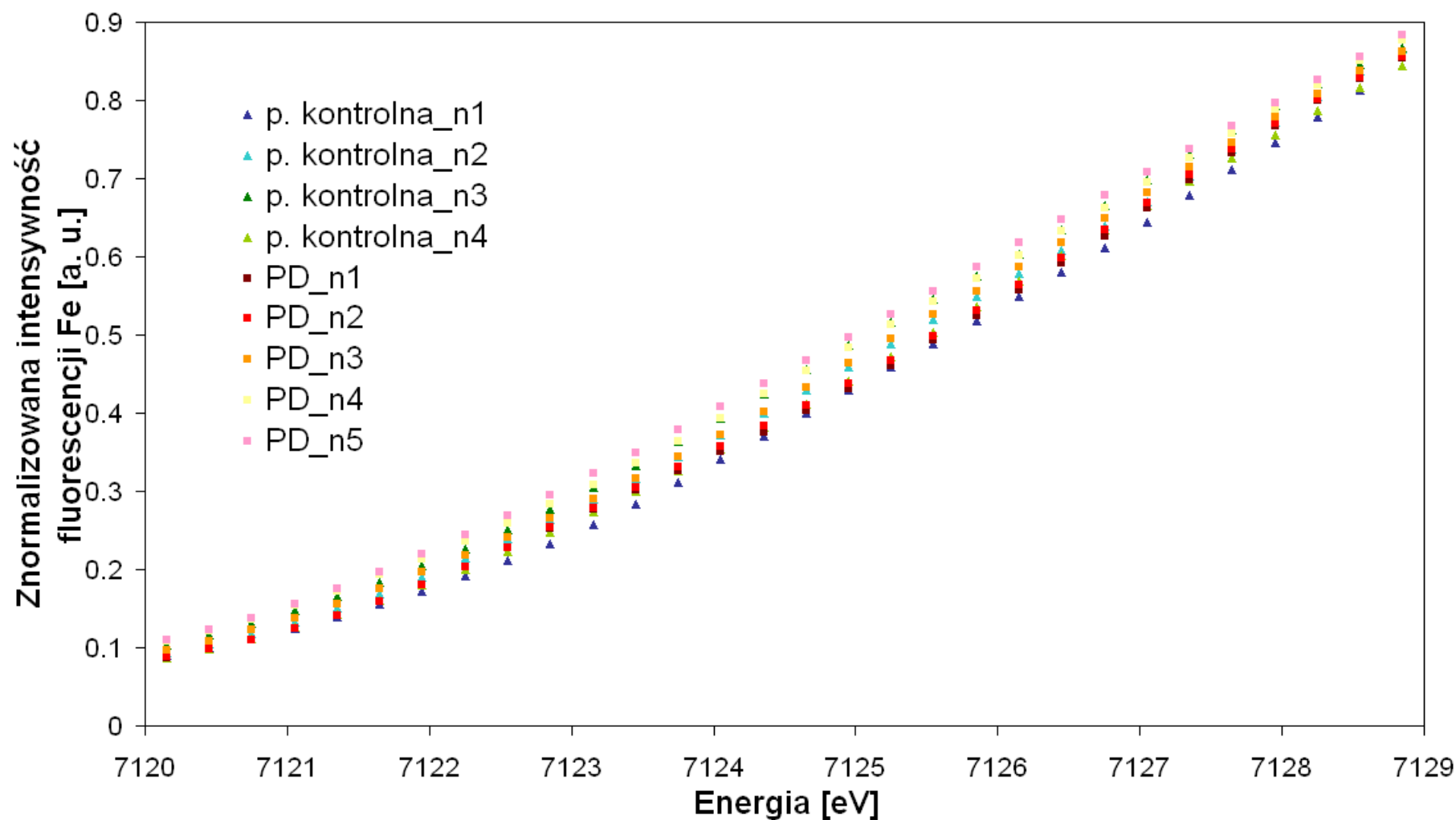
Widma XANES Fe zmierzone w neuronach istoty czarnej

XANES; Fe - istota czarna



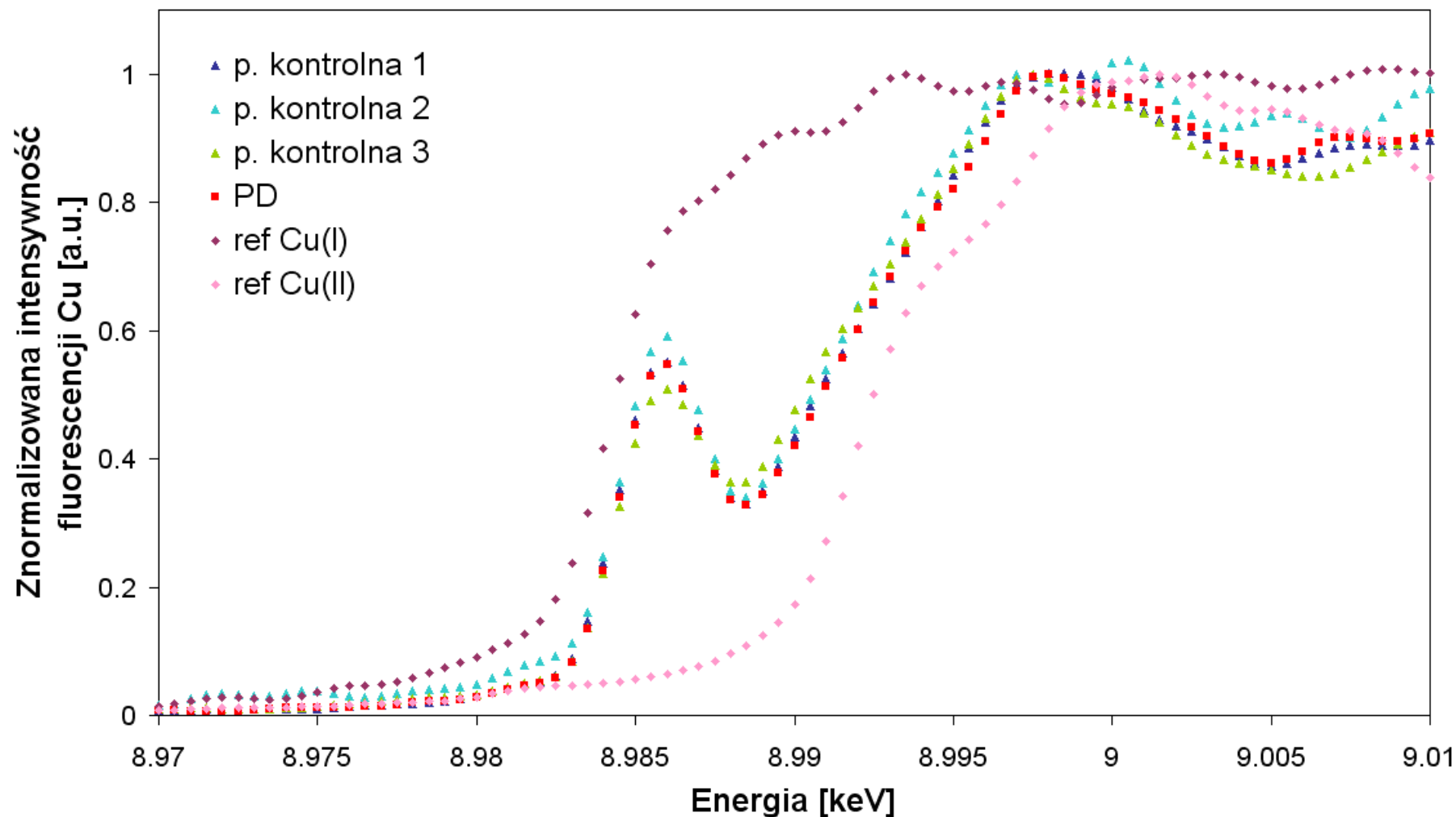
Widma XANES Fe zmierzone w neuronach istoty czarnej

XANES; Fe - istota czarna



Widma XANES Fe zmierzone w neuronach istoty czarnej dla wybranej próbki kontrolnej i próbki reprezentującej PD

XANES; Cu - istota czarna



Widma XANES Cu zmierzone w neuronach istoty czarnej

XANES; Podsumowanie wyników

- *Nie stwierdzono różnic w stopniu utlenienia Fe pomiędzy neuronami istoty czarnej dla przypadku PD i grupy kontrolnej.*
- *W przeważającej części żelazo w pigmentowanych neuronach występuje na trzecim stopniu utlenienia.*
- *Wyniki badań techniką XANES dla Cu w próbkach istoty czarnej nie wykazały istotnych różnic w stopniu utlenienia tego pierwiastka dla przypadku ch. Parkinsona w porównaniu z grupą kontrolną.*
- *Większość miedzi występuje w neuronach istoty czarnej na drugim stopniu utlenienia czyli w formie utlenionej.*

Plany na przyszłość

- 1. Analiza stopni utlenienia siarki w nowotworowych glejakach mózgu w zależności od stopnia złośliwości nowotworu;*
- 2. Analiza molekuł biologicznych dla przypadków nowotworowych glejaków mózgu przy wykorzystaniu mikrospektroskopii w podczerwieni;*
- 3. Ocena udziału pierwiastków śladowych i biomolekuł w procesie epileptogenezy towarzyszącej glejakom mózgu;*
- 4. Ocena udziału pierwiastków śladowych i biomolekuł w procesach neurodegeneracyjnych, związanych ze stwardnieniem bocznym zanikowym, w oparciu o badania na hodowlach komórkowych;*
- 5. Kontynuacja badań nad schorzeniami neurodegeneracyjnymi (analizy pierwiastkowe i molekularne);*

Plany na przyszłość, c.d.

6. Ocena wpływu zanieczyszczeń środowiska na akumulację pierwiastków w tkankach (w oparciu o badania na zwierzętach).

Dotychczasowe badania wykonane na grupie żab (gatunek: żaba śmieszka) hodowanych w wodach skażonych ołowiem. Ocena akumulacji Pb oraz innych pierwiastków w wybranych narządach zwierząt (mózg, nerki, wątroba, gonady). Najsilniejsza akumulacja Pb wystąpiła w nerkach i wątrobie (ok. 10x wyższa niż w kontroli), gonady (ok. 5x). Mózg: akumulacja Pb porównywalna z kontrolą. W wątrobie i nerkach zaobserwowano zmiany w akumulacji Cl, Fe, Cu, Zn, Br, Rb.

DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ