

Wieloskalowe badania nad zależną od prędkości odkształcenia odpowiedzi macierzy międzypęczkowej izolowaną od odpowiedzi struktur kolagenowych w ścięgnach na proces wielokrotnego mrożenia.

Ruch jest naturalną i fizjologiczną potrzebą każdego człowieka. Ruch jest także fundamentem zdrowego życia, a regularna aktywność fizyczna znacząco redukuje ryzyko przedwczesnej śmierci na skutek otyłości, cukrzycy, nowotworów, chorób serca, układu krążenia czy chorób neurodegeneracyjnych. Niestety, na skutek wypadków wynikających z kontaktowości niektórych dyscyplin sportowych, a także czynników tj. brak odpowiedniej rozgrzewki czy nadmierna intensywność wykonywanych ćwiczeń, aktywność fizyczna może być bezpośrednią przyczyną wielu dolegliwości związanych z układem ruchu człowieka. Wśród tych dolegliwości najczęstsze są uszkodzenia struktur (tkanek) miękkich tj. ścięgna czy więzadła. Jednym z najszerzej opisywanych w literaturze medycznej urazów jest uszkodzenie przedniego więzadła krzyżowego kolana, które wymaga chirurgicznej interwencji i jego rekonstrukcji z użyciem allogenicznych przeszczepów tkankowych, wykonanych z miękkich tkanki ścięgnistej (np. z ścięgna Achillesa).

Tkanki miękkie, przeznaczone do przeszczepów allogenicznych, konserwowane są w bankach tkanek poprzez przechowywanie w warunkach głębokiego mrożenia, tj. w temperaturze $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. W literaturze dowiedziono, że przechowywanie w tak niskiej temperaturze wywołuje martwicę komórek żywych i utratę immunogenności tkanki, skutecznie minimalizując ryzyko odrzucenia przeszczepu i eliminując konieczność stosowania leków immunosupresyjnych. W najbardziej typowych przypadkach, przetwarzanie tkanki od momentu pobrania jej od dawcy do chwili wszczęcia jej do organizmu biorcy, wymaga przynajmniej dwukrotnego jej rozmrożenia. Dodatkowe rozmrażanie tkanek zwykle jest wynikiem potrzeby jej sterylizacji lub przeprowadzenia niezbędnych badań serologicznych i mikrobiologicznych. Niestety, istnieją także przypadki, w których liczba zastosowanych cykli mrożenia i rozmrażania (M/R) wynosi trzy lub więcej. Taka sytuacja może wystąpić np. w przypadku dawcy wielonarządowego (gdzie z uwagi na dużą liczebność pobieranych jednocześnie tkanek, część z nich jest mrożona bezpośrednio po pobraniu, a dopiero w dogodnym czasie rozmrażana i poddawana sterylizacji i badaniom), w przypadku niejednoznacznych wyników badań serologicznych i mikrobiologicznych (i konieczności ich powtórzenia) lub gdy planowana operacja musi zostać odwołana, a sterylnie opakowanie z rozmrożoną już tkanką nie zostało jeszcze otwarte. W sytuacji tej powstaje uzasadniona wątpliwość czy i w jakim stopniu wielokrotne M/R tkanki będzie wpływać na jej właściwości. Różnorodność przypadków medycznych, w których konieczne jest zastosowanie wielokrotnego M/R, generuje silną potrzebę przeprowadzania badań, które pomogą w pełni zrozumieć wpływ wielokrotnego M/R na właściwości mechaniczne, biochemiczne i strukturalne tkanek, na każdym poziomie ich hierarchii.

Głównym celem tego projektu jest zbadanie quasi-statycznej i zależnej od prędkości odkształcenia odpowiedzi macierzy międzypęczkowej (MM) ścięgna, odseparowanej od odpowiedzi struktur kolagenowych, powstałej na skutek wielokrotnego M/R. Projekt jest zaprojektowany jako kontynuacja i rozszerzenie badań prowadzonych poprzednio przez Wnioskodawcę, które jednoznacznie dowiodły negatywnego wpływu wielokrotnego M/R na stabilność mechaniczną ścięgna rozpatrywanego jako jedna niepodzielna jednostka. Kolejny etap tych badań został zaproponowany w tym projekcie i ma na celu odpowiedzieć na następujące pytania badawcze: Jaka jest indywidualna odpowiedź mechaniczna i biochemiczna różnych składowych ścięgna poddanemu wielokrotnym cyklom M/R? Czy możliwe jest oddzielenie odpowiedzi pochodzącej z fazy kolagenowej ścięgna od odpowiedzi pochodzącej od MM? Jakie mechanizmy odpowiedzialne są za uszkodzenie każdego z komponentów tkanki podczas jej wielokrotnego zamrażania? W jakim stopniu właściwości sprężyste ścięgna związane są z mechaniką jego podstruktur kolagenowych? Główna hipoteza badawcza w tym projekcie zakłada, że obserwowane w poprzednim badaniu, postępujące pogarszanie się właściwości lepkich tkanki (traktowanej jako jedna niepodzielna jednostka) wraz z kolejnymi cyklami M/R jest wynikiem zmian wytrzymałości mechanicznej i właściwości biochemicznych macierzy międzypęczkowej. Zgodnie z hipotezą Wnioskodawcy, kolejne cykle M/R mogą zakłócać poziom trzech białek MM, które są ściśle związane z odpowiedzią mechaniczną macierzy (białko dekorynowe) i zawartością w niej cząsteczek wody (agrekan, wersykan). Co więcej, każda tkanka miękka jest materiałem lepkosprężystym, a zatem wykazuje zachowanie zależne od szybkości jej odkształcenia, Wnioskodawca chce zatem odpowiedzieć na dodatkowe pytanie badawcze: czy i w jakim stopniu wielokrotne M/R wpływa na wrażliwość poszczególnych składowych tkanki na szybkość jej odkształcenia?

Oddzielenie odpowiedzi fazy kolagenowej ścięgna od tej pochodzącej od macierzy będzie kluczem do zrozumienia mechanizmu uszkodzenia wielokrotnie mrożonej tkanki na najniższych poziomach jej hierarchii. Wiedza ta z kolei może pomóc w opracowaniu nowych protokołów przetwarzania alloprzeszczepów tkankowych, tak aby móc kontrolować lub wpływać na ich wybrane właściwości i przygotowywać przeszczepy dedykowane do potrzeb każdego pacjenta. Takie podejście zapewni wyższą jakość dystrybuowanych przeszczepów tkankowych, a tym samym lepszą jakość życia pacjentów po zabiegu rekonstrukcji.