

Platforma bioanalityczna oparta na tandemowej spektrometrii mas do charakteryzowania superparamagnetycznych nanocząstek o potencjalnym zastosowaniu medycznym

Choroba nowotworowa jest jednym z największych wyzwań współczesnej opieki zdrowotnej. Skuteczna kontrola choroby zależy od jej szybkiej diagnozy oraz efektywnego leczenia, a te mogą być możliwe dzięki wprowadzaniu nowych technik umożliwiających jednoczesne wykrywanie i terapię nowotworu. Takie podejście jest domeną nanomedycyny, opartej na wykorzystywaniu nanocząstek – „struktur” o rozmiarach 1–100 nm, które dzięki unikatowym właściwościom fizyko-chemicznym mogą być atrakcyjnymi materiałami w obrazowaniu i terapii onkologicznej.

Superparamagnetyczne nanocząstki tlenku żelaza (SPIONs, ang. *superparamagnetic iron oxide nanoparticles*) należą do nanomateriałów o właściwościach magnetycznych i charakteryzują się stabilnością, małą toksycznością, dobrą biokompatybilnością i biodegradowalnością. Co najmniej kilka z nich zostało zatwierdzonych przez Agencję Żywności i Leków jako znaczniki w obrazowaniu organów za pomocą rezonansu magnetycznego. Jednak obecnie większym zainteresowaniem cieszą się SPIONs drugiej generacji, które mogą być stosowane jako zintegrowane rozwiązania w diagnostyce (poprzez monitorowanie ich rozmieszczenia za pomocą rezonansu) i terapii, służąc do przenoszenia leków przeciwnowotworowych czy genów, w terapiach fototermalnych, fotodynamicznych i magnetycznej hipertermii. Użyteczność medyczna SPIONs zależy od ich budowy warunkującej właściwości (opisywane wielkościami fizycznymi i chemicznymi), które powinny być rygorystycznie kontrolowane na każdym etapie syntezy umożliwiając tworzenie struktur dla pożądanych zastosowań. Ważnym etapem wytwarzania nanomateriałów jest modyfikacja powierzchni („okrywanie” płaszczem) lub jej funkcjonalizacja - dołączanie dodatkowych ligandów lub (bio)cząsteczek.

Głównym celem projektu jest opracowanie metodyk analitycznych do przedklinicznego charakteryzowania właściwości SPIONs projektowanych do potencjalnych zastosowań medycznych, a także badania ich zachowania się w osoczu krwi ludzkiej - oddziaływań z białkami surowicy, ze szczególnym uwzględnieniem transferyny (białka krwi odpowiedzialnego za „celowany” transport żelaza do komórek nowotworowych).

Efektywność transportu SPIONs funkcjonalizowanych (w warunkach laboratoryjnych, przed kontaktem z osoczem) transferyną do komórek nowotworowych była już badana. Niestety, uzyskane wyniki nie potwierdziły skuteczności takiego rozwiązania. Prawdopodobną przyczyną niepowodzenia mogły być śródrylnne oddziaływania połączeń transferyna–SPIONs z innymi białkami surowiczymi, prowadzące do tworzenia tzw. koron białkowych, kluczowo wpływających na biologiczną tożsamość nanomateriału. Tworzenie koron jest procesem dynamicznym, który może powodować wymianę początkowo związanych z powierzchnią materiału białek na inne, występujące w formie wolnej we krwi. W ramach projektu proponujemy nowe, zmienione podejście do badań SPIONs (model tzw. „funkcjonalizacji SPIONs *in situ*”), w ramach którego charakteryzowane będą właściwości nanomateriałów funkcjonalizowanych transferyną w środowisku osocza krwi ludzkiej (a nie otrzymywanych poza ustrojem) co, między innymi, może również pozwolić na wyselekcjonowanie nanomateriałów obiecujących medycznie.

Do opracowania bioanalitycznej platformy charakteryzowania oddziaływań SPIONs ze składnikami osocza ludzkiego (białkami) zostaną użyte połączenia aparaturowe wysokosprawnych metod rozdzielania z czułymi modułami służącymi do identyfikacji substancji i ich ilościowego oznaczania (techniki sprzężone). Podstawę do dalszych badań stworzy zoptymalizowanie metodyki monitorowania zachowania handlowo dostępnych SPIONs w surowicy krwi ludzkiej. Tworzące się połączenia SPIONs będą rozdzielane za pomocą elektroforezy kapilarnej lub chromatografii wykluczania i wykrywane za pomocą spektrometru mas specyficznego izotopowo. Identyfikacja białek tworzących „korony” na powierzchni SPIONs będzie prowadzona za pomocą spektrometrii mas specyficznego cząsteczkowo. Opracowane „narzędzia analityczne” posłużą do charakteryzowania nowych, zsyntezowanych SPIONs i testowania ich pod kątem efektywności funkcjonalizacji za pomocą transferyny *in situ* w surowicy krwi ludzkiej (co będzie podstawą oceny możliwości ich potencjalnych zastosowań w obszarach medycznych).

Metodyki opracowane w ramach projektu pozwolą na rozszerzenie dotychczasowego zakresu stosowalności technik sprzężonych o badania nad nowymi analitami – SPIONs. Realizacja celów projektu, dzięki głębszemu wejrzeniu w mechanizmy transportu nanomateriałów w krwiobiegu, poszerzy również ogólną wiedzę na temat ich potencjalnych zastosowań terapeutycznych i diagnostycznych.