

Ze względu na wzrost występowania czynników prowadzących do rozwoju zespołu wieńcowego oraz starzenie populacji, zawał mięśnia sercowego jest jedną z głównych przyczyn zachorowalności i śmiertelności w Polsce. Dużą grupę stanowią pacjenci, u których występują znaczne trudności w rozpoznaniu tej jednostki chorobowej. Potrzeba opracowania nowych, czułych metod diagnostycznych spowodowała dynamiczny rozwój biosensorów umożliwiających oznaczenie i monitorowanie markerów, których stężenie w surowicy krwi wzrasta w wyniku niedostatecznego dotlenienia mięśnia sercowego. Zaburzenia te są następstwem zmian perfuzji krwi na skutek procesów zapalnych i miażdżycowych w naczyniach krwionośnych.

W literaturze potwierdzono możliwość wykorzystania wielu materiałów w roli podłoża do oznaczania markerów biochemicznych. Na szczególną uwagę zasługują jednak nanorurki ditlenku tytanu, charakteryzujące się: dużą powierzchnią właściwą, bioaktywnością, biozgodnością, oraz zdolnością do immobilizowania elementów biologicznych. Dodatkowo, modyfikacja za pomocą nanocząsteczek złota oraz wyżarzanie w wysokich temperaturach wpływają na poprawę stabilności biomolekuł oraz przewodnictwa elektrycznego podłoża nanorurek ditlenku tytanu. Do zalet nanocząsteczek złota należą również: szybkie i łatwe metody syntezy, zwiększenie transferu elektronów pomiędzy powierzchnią elektrody, a oznaczanym analitem, oraz silna adsorpcja biocząsteczek przy zachowaniu ich bioaktywności. Według licznych doniesień literaturowych możliwe jest wykorzystanie w diagnostyce zawału mięśnia sercowego markerów o wysokiej specyficzności - troponina T, czułości w pierwszych godzinach niedotlenienia - sercowe białko wiążące kwasy tłuszczowe oraz markera związanego z procesami destabilizacji blaszki miażdżycowej - ciężowe białko osoczone typu A.

Celem niniejszego projektu jest poszerzenie aktualnego stanu wiedzy w zakresie modyfikacji podłoża nanorurek ditlenku tytanu za pomocą nanocząsteczek złota oraz sprawdzenie wybranych parametrów w odniesieniu do białek, które uwalniane są do krwioobiegu w wyniku martwicy mięśnia sercowego oraz pęknięcia blaszki miażdżycowej. Pierwszy etap badań obejmować będzie wytworzenie nanorurek ditlenku tytanu w procesie anodowania folii tytanowej oraz ich modyfikację termiczną. Platforma ta zostanie następnie domieszkowana nanocząsteczkami złota za pomocą trzech metod: chronoamperometrii, napyłania lub bezpośrednio w procesie anodowania nanorurek ditlenku tytanu. Ostatnim etapem będzie unieruchomienie na opracowanym podłożu przeciwciał monoklonalnych, a następnie nakroplenie roztworu antygenów. Charakterystyka podłoża przed i po zabiegach modyfikacji za pomocą nanocząsteczek złota sprowadzać będzie się do badań mikrostruktury, składu fazowego oraz chemicznego, pomiaru kąta zwilżania, a także wyznaczenia charakterystyk elektrochemicznych. Efektywność procesu nanoszenia nanocząsteczek złota, a w kolejnych etapach unieruchamiania elementów biologicznych zostanie określona poprzez badania spektrofotometryczne roztworów, w których dokonano odmycia zmodyfikowanych powierzchni.

Koncepcja modyfikacji nanotubularnych warstw ditlenku tytanu za pomocą nanocząsteczek złota nie została dotychczas dokładnie opisana. Wyniki uzyskane w ramach tego projektu pozwolą na określenie mechanizmu osadzania nanocząsteczek na podłożu nanorurek ditlenku tytanu, pełną charakterystykę wytworzonych warstw, ocenę wpływu parametrów morfologicznych (wysokość, średnica nanorurek) na prowadzony proces, a także opracowanie platformy umożliwiającej detekcję markerów związanych z uszkodzeniem mięśnia sercowego. Podstawą badań jest również wybór najbardziej kluczowych dla przewodności podłoża nanorurek ditlenku tytanu parametrów (metody i parametrów nanoszenia nanostruktur złota, ich ilości i średnicy oraz stężenia roztworu prekursora złota), pozwalających na poprawę jego właściwości sensorycznych. Jak dotąd, nie podjęto próby wykorzystania tej platformy do monitorowania stężenia wybranych markerów martwicy mięśnia sercowego i niestabilności blaszki miażdżycowej. Opracowane dotychczas bioczujniki umożliwiające pomiar stężenia ciężowego białka osoczonego u kobiet w ciąży, charakteryzują się niedostatecznym limitem detekcji co wyklucza ich zastosowanie w diagnostyce zawału mięśnia sercowego. Brak jest w literaturze badań nad wytworzeniem podłoża do jednoczesnego oznaczania troponiny T, sercowego białka wiążącego kwasy tłuszczowe oraz ciężowego białka osoczonego typu A. Brak jest również badań porównujących metody osadzania nanocząsteczek złota. W projekcie zostaną porównane również metody unieruchamiania elementów biologicznych wykorzystujące oddziaływania elektrostatyczne, środki sieciujące lub streptawidynę. Zakłada się, że wykorzystanie nanocząsteczek złota umożliwi poprawę przewodnictwa elektrycznego podłoża nanorurek ditlenku tytanu. Badania podstawowe wykonane w ramach projektu przyczynią się do opracowania w przyszłości funkcjonalnego, czułego biosensora do oznaczania wybranych markerów. Wykorzystanie niewielkiej matrycy nanorurek ditlenku tytanu w połączeniu z prostą techniką pomiarową umożliwi przyspieszenie ilościowego oznaczenia wybranych białek - troponiny T, sercowego białka wiążącego kwasy tłuszczowe oraz ciężowego białka osoczonego typu A.