Nowe strategie ilościowego obrazowania rozmieszczenia pierwiastków w tkankach zwierzęcych metodą ablacji laserowej połączonej ze spektrometrią mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej

Metoda ablacji laserowej połączonej ze spektrometrią mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (LA-ICP-MS) jest wykorzystywana do bezpośredniej analizy pierwiastkowej ciał stałych. Efektem pomiaru może być uzyskanie danych na temat wielu pierwiastków obecnych w próbce w bardzo szerokim zakresie stężeń, a zatem informacji zarówno o głównych składnikach, jak i pierwiastkach występujących na poziomie zawartości śladowych. Metoda LA-ICP-MS umożliwia wgląd w rozmieszczenie pierwiastków na powierzchni próbki wywołując zmiany próbki na poziomie mikrozniszczeń. W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie zastosowaniami tej metody podczas analiz próbek biologicznych i klinicznych, począwszy od badań mechanizmów chorób i działania leków na modelach zwierzęcych, a skończywszy na prototypach rutynowych analiz materiału biopsyjnego pobranego od człowieka. Niestety, z uwagi na wysoką zawartość wody i aktywność mikroorganizmów w tkankach miękkich po pobraniu ich z organizmu, należy zwrócić uwagę na ich niestabilność. Każdy z aktualnie stosowanych sposobów utrwalenia próbki może wpływać na jej skład chemiczny, a ponadto podczas analizy ICP-MS pojawiają się dodatkowe wymagania (np. płaska powierzchnia analizowanego obiektu) wymuszające określone sposoby przygotowania., które mogą ingerować w pierwotne rozmieszczenie pierwiastków. Sposób pobierania materiału w metodzie LA-ICP-MS jest dość silnie zależny od rodzaju matrycy; wiązka laserowa inaczej oddziałuje z ciemną tkanką o wysokiej zawartości wody, a inaczej z suchą i jasną. W literaturze podkreśla się konieczność doboru wzorców jak najbardziej zbliżonych składem i strukturą do próbki, co w przypadku analiz biologicznych i klinicznych jest bardzo utrudnione. Brak jest na rynku wzorców tkanek nieutrwalonych, co jest oczywistą konsekwencją ich niestabilności. Dostępne materiały liofilizowane są już poddane obróbce, której analizowana próbka niekoniecznie będzie poddana, a stopień ich jednorodności, zadowalający w metodach wymagających przeprowadzenia do roztworu, jest niewystarczający przy mikroanalizach LA-ICP-MS. Proponowane jest każdorazowe samodzielne wykonywanie wzorców stałych naśladujących białkową matrycę, np. na bazie żelatyny, jednakże jest to procedura czasochłonna, mało powtarzalna, i nie do końca zapewniająca zgodność matrycową. Nowatorskim podejściem do analizy ilościowej tkanek metodą LA-ICP-MS jest zastosowanie metody rozcieńczeń izotopowych (ID-MS). Ten rodzaj kalibracji wykorzystuje pomiar stosunków określonych izotopów danego pierwiastka, które pozostają stałe niezależnie od matrycy. Celem projektu jest systematyczna analiza wpływu dostępnych sposobów przygotowania tkanek miękkich do badań LA-ICP-MS na zmiany w zawartości wybranych pierwiastków z wykorzystaniem kalibracji ID-MS. Oceniony zostanie wpływ suszenia i liofilizacji, a także cięcia mikrotomowego i kriotomowego. W badaniach wstępnych wykazano znaczące zmiany w intensywności sygnału dla wybranych pierwiastków po liofilizacji oraz znacznie mniejszy wpływ suszenia. Otrzymane wyniki wymagają jednak potwierdzenia ilościowego z wykorzystaniem bezwzględnej, niezależnej od matrycy metody. Plan badań obejmuje przygotowanie komercyjnie dostępnych próbek narządów zwierzęcych wymienionymi metodami, a następnie opracowanie metodologii kalibracji z zastosowaniem ID-MS. Otrzymane wyniki zostaną przeanalizowane z wykorzystaniem metod statystycznych w celu dowiedzenia różnic między sposobami przygotowania próbki. Spodziewanym efektem projektu jest opracowanie uniwersalnych wytycznych dotyczących przygotowania próbki tkanki miękkiej do analizy metodą LA-ICP-MS.