

„Innowacyjne podejście do badania dystrybucji ante-mortem oraz redystrybucji post-mortem substancji psychoaktywnych w tkankach ludzkich - od modelu zwierzęcego do przypadku analizy tkanek ludzkich”

Zagadnienie **dystrybucji ante-mortem** (przed śmiercią) oraz **post-mortem** (pośmiertnej) **redystrybucji** substancji psychoaktywnych w tkankach i narządach ma ogromne znaczenie, zwłaszcza gdy klasyczne matryce, takie jak krew, są niedostępne, i należy zbadać matryce alternatywne np. aspirat szpiku kostnego, ciało szkliste oka, czy wątrobę.

Celem projektu jest ustalenie **korelacji zawartości badanych substancji** pomiędzy tkankami, **uzyskanie profili stężenia analitów w czasie** oraz **ich zależności od czasu od śmierci**.

Substancje psychoaktywne powszechnie **spotykane w praktyce toksykologicznej** zostały wybrane do analizy i należą one do grup opiatów, opioidów, amfetamin, benzodiazepin, selektywnych inhibitorów wychwytu zwrotnego serotoniny i innych. W ramach projektu zostaną wykorzystane dwie grupy metod: **wiarygodna i precyzyjna chromatografia cieczowa** połączona ze spektrometrią mas (LC-MS), w której zostaną zastosowane dwa różne podejścia do przygotowania próbki - **bezpośrednia mikroekstrakcja** do fazy stałej - in-vivo-DI-SPME, i metoda suchej kropli krwi - DBS, oraz **minimalnie niszczące metody** spektroskopii Ramana, podczerwieni i fluorescencji.

W trakcie projektu zrealizowane zostaną następujące zadania. **Zadanie 1** dotyczyć będzie opracowania **metody in vivo, bezpośredniego pomiaru tkanek i narządów** zwierzęcych jak również i ludzkich. Etap ten jest niezbędny do skutecznego prowadzenia eksperymentów. Analiza **rozmieszczenia substancji psychoaktywnych** zostanie przeprowadzona przy użyciu DI-SPME jako metody przygotowania próbki. Następnie próbki będą analizowane za pomocą LC-MS. Odpowiedni model kalibracji zostanie wybrany. W **Zadaniu 2** zostanie opracowana metoda przechowywania i ochrony ciekłych próbek biologicznych w sposób **mikroinwazyjny i wymagający minimalnej ilości próbek**. Ten cel projektu ma szczególne znaczenie w przypadkach, gdy dostępna ilość materiału biologicznego jest niewielka i analiza klasyczna stanowi wyzwanie. Na tym etapie analiza zostanie przeprowadzona przy użyciu metody DBS, a dalsze pomiary LC-MS i analiza danych prowadzone będą w sposób podobny do **Zadania 1**. Przedmiotem **Zadania 3** będzie analiza porównawcza zawartości substancji psychotropowych w tkankach i narządach. Stężenie substancji i ich metabolitów w różnych matrycach zostanie ustalone przy użyciu zoptymalizowanych metod opracowanych w toku **Zadań 1 i 2** oraz **porównane w zależności od początkowych dawek substancji**, czasu po i sposobu podania oraz czasu od śmierci. Istotność różnic i korelacji pomiędzy odpowiednimi matrycami biologicznymi zostanie przetestowana statystycznie. **Zadanie 4** dotyczyć będzie opracowania **modeli farmakokinetycznych**, opisujących profile stężenia poszczególnych analitów w czasie. Modele te będą budowane na podstawie stężeń substancji psychoaktywnych ustalonych w **Zadaniu 3** w odpowiednich matrycach. Eksperyment zwierzęcy zostanie wykorzystany do stworzenia modeli i ich walidacji, zatem na tym etapie nie zostanie użyty trudno dostępny ludzki materiał sekcyjny. W ostatnim etapie modele zostaną przetestowane na próbkach ludzkich jako element przygotowania do ich zastosowania w praktyce toksykologicznej. Próbki te będą pochodzić z przypadków autopsji o znanej historii medycznej. W **Zadaniu 5** zostanie przeprowadzona identyfikacja oraz ustalenie zmian jakie zachodzą w czasie w próbkach ciała szklatego oka i krwi przy użyciu nieniszczących metod spektroskopii wibracyjnej i fluorescencji. Wykorzystanie tej prostej metodologii spektroskopowej zostanie przetestowane w badaniu zmian zachodzących w tkankach królików przed i po śmierci. **Następnie zbadane zostaną próbki ludzkie. W celu ustalenia czasu od śmierci na podstawie zaobserwowanych zmian** zbudowane zostaną odpowiednie modele regresji. W dalszym etapie to spektroskopowe podejście zostanie zbadane pod kątem możliwego oznaczania leków w matrycach biologicznych. Uzyskane dane będą porównane z wynikami z **Zadania 3**.

Realizacja tego projektu będzie miała ogromne znaczenie dla chemii sądowej i toksykologii. Eksperyment zwierzęcy pozwoli poszerzyć i usystematyzować wiedzę na temat procesów przed i pośmiertnych oraz opracować odpowiednie modele rozmieszczenia wybranych substancji psychoaktywnych, które można będzie potem odnieść do zmian zachodzących w ciele ludzkim.

Jesteśmy głęboko przekonani, że nasza metodologia pozwoli zdobyć nową wiedzę na temat zmian przed i pośmiertnych, co przyniesie korzyści społeczeństwu, a także przyczyni się do rozwoju chemii analitycznej.