

Wissenschaftliches Hauptprogramm (Teil 1): Dermopharmazeutische Technologie und Dermatopharmakologie

Visualisierung von Nanopartikeln in der Haut mittels hochauflösender Fluoreszenzmikroskopie

*Prof. Dr. Ulrike Alexiev
Institut für Experimentalphysik
Freie Universität Berlin*

Das Ziel ist es, innovative Nanopartikel für die gezielte topische Therapie der Haut in Bezug auf Penetration und zelluläre Aufnahmemechanismen mittels einer neuen hochauflösenden fluoreszenzmikroskopischen Methode zu untersuchen.

Es ist ein gängiges Verfahren, zur Visualisierung der Nanopartikel diese mit fluoreszierenden Farbstoffen zu funktionalisieren und auch Fluorophore als Wirkstoffsurrogate im Stadium der Entwicklung und Testung von Nanopartikeln zu verwenden. Jedoch können klassische intensitätsbasierte Fluoreszenzmikroskopie-Methoden nicht zwischen Beiträgen der Autofluoreszenz der Haut und der Nanopartikel-Fluoreszenz direkt unterscheiden, so dass Kontrollmessungen für die Festlegung eines Threshold-Wertes notwendig sind. Damit ist die Sensitivität des Verfahrens begrenzt und birgt die Gefahr von Über- und Unterschätzung der Fluoreszenzsignale des Nanopartikels oder des Wirkstoffs (surrogates). Sowohl falsch-positive als auch falschnegative Penetrationsresultate können die Folge sein.

Fluoreszenzlebensdauer Imaging Mikroskopie (FLIM) ist eine Methode, die durch die zusätzliche Information der Fluoreszenzlebensdauer zu einer Kontrastverbesserung im Mikroskop führt, da sich die Fluoreszenzlebensdauern der verschiedenen Fluorophore unterscheiden, d.h. als unterschiedliche fluoreszierende Spezies mittels Falschfarben dargestellt werden können. Die korrekte Extraktion dieser Fluoreszenzlebensdauern durch eine von uns neuentwickelte Analysemethode (Cluster-FLIM) erlaubt eine exakte Unterscheidung zwischen autofluoreszierenden Molekülen in der Haut und den Nanopartikeln, auch bei geringen Intensitäten, d.h. bei vergleichsweise kurzen Messzeiten. Damit ist eine Visualisierung von Nanopartikeln in den verschiedenen Schichten der Haut mit einer unübertroffenen Genauigkeit und Sensitivität nicht nur in Hautgewebeschnitten, sondern auch in Hautbiopsien und Hautmodellen möglich.

Ein weiterer Vorteil der Fluoreszenzlebensdauer-basierten Messungen besteht darin, dass die Lebensdauer sensitiv zur lokalen Umgebung des Fluorophores ist. Damit können Änderungen in der Polarität, Viskosität sowie die Bindung z.B. an Zellmembranen oder Rezeptorproteine detektiert werden. Diese Sensitivität nutzen wir aus, um zelluläre Interaktionen und Aufnahmerouten der Nanopartikel zu untersuchen und Bindungspartner zu identifizieren und gleichzeitig auch die Nanotoxizität mittels



einer FLIM-basierten Detektion von reaktiven Sauerstoff-Spezies zu evaluieren. Damit erhalten wir wichtige neue Einsichten, um Nanopartikel und Wirkstoffe gezielt zu bzw. in Zellen hineinzubringen und die Freisetzung des Wirkstoffes in der Zelle zu verfolgen.

Dank gilt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung dieser Forschung.

