

Микола БОГОМОЛОВ, канд. техн. наук, доц.,  
Олена ГОЛЕМБІОВСЬКА, канд. фарм. наук,  
Анастасія КУЗНЄЦОВА, студент,  
Валерія СОКОЛЮК, студент,  
Денис ЯНИЦЬКИЙ, студент

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна,  
e-mail: kuznetsova.anastasiia@iill.kpi.ua

## НАНОСЕНСОРИ В БІОМЕДИЧНОМУ ЗАСТОСУВАННІ

**Анотація:** У цьому огляді представлено сучасні біохімічні біосенсори, їх конструкції та принципи роботи. Висвітлене значення останніх досягнень у цій області та вирішення ключових проблем. Особлива увага приділена використанню мініатюрних та нетоксичних сенсорних пристроїв *in vivo* для аналізу клінічних біомаркерів. Проаналізовано перспективи застосування та виклики, що вказують на великий потенціал цієї технології у розробці нового покоління біосенсорів з різноманітними застосуваннями.

**Ключові слова:** біохімічні біосенсори, наносенсори, біомедична інженерія, клінічні біомаркери.

### Актуальність дослідження

За останні роки популярність галузі електрохімічних біосенсорів значно зросла [1]. Біосенсори стали ключовими інструментами в діагностиці, біомедичних дослідженнях, завдяки високій чутливості, швидкості та можливості реалізації у малому просторі. Актуальність таких досліджень полягає в постійному пошуку нових можливостей використання біосенсорів у медицині та біологічних науках. Водночас розвиток нових технологій, таких як нанотехнології, відкрив широкі перспективи для створення біосенсорів на основі наноматеріалів, які забезпечують високу чутливість і точність діагностики різноманітних захворювань. Це відкриває нові можливості для розробки інноваційних діагностичних засобів, у тому числі тих, які можна застосовувати безпосередньо на місці надання медичної допомоги. Такі технології мають потенціал для значного покращення діагностики захворювань та забезпечення більш швидкого та точного виявлення біомаркерів захворювань, що відкриває нові перспективи в медичній практиці.

**Мета дослідження** полягає в огляді сучасних технологій біосенсорів, їх можливостей, застосування та перспектив використання для підвищення ефективності діагностики.

### Основні матеріали досліджень

**Сучасні біосенсори.** Біосенсори в сучасному розумінні цього твердження являють собою високоінтегровані системи, що поєднують в собі біомолекулярне розпізнавання з фізичними перетворювачами для створення електричного чи оптичного сигналу, який залежить від концентрації хімічного або біологічного зразка. Вони містять мікромасштабні датчики і виконавчі механізми на одному чіпі або на гнучких субстратах. Це призвело до розвитку складних біохімічних і біоелектронних пристроїв, такі як системи “Lab-on-a-Chip”, що дозволяють проводити багато тестів одночасно [2]. Основний принцип роботи біосенсора (рис. 1): схема включає в собі біомолекули, що іммобілізовані в твердій матриці – вони діють як біорецептори, розпізнаючи аналіт. Фізико-хімічний перетворювач, наприклад: електрод, знаходиться в тісному контакті з іммобілізованими біомолекулами. При взаємодії біомолекул з аналітом, біохімічний сигнал перетворюється фізико-хімічним перетворювачем у кількісно вимірювальний електричний сигнал. Цей сигнал може бути додатково посилений і оброблений для отримання реакції аналіту. Таким чином, біосенсори використовують біологічні рецептори для спеціального розпізнавання аналітів, перетворення біохімічних сигналів в вимірювані електричні сигнали та подальшої їх обробки для отримання аналітичної інформації [3].



Рис. 1. Принцип роботи біосенсора

Біосенсори можна класифікувати за їх принципом дії (рис. 2). Оптичні та електрохімічні принципи включають у себе два основних механізми перетворення на основі інтенсивності світла та

електричного розподілу. Електрохімічні датчики демонструють значний потенціал, особливо в біомедичних дослідженнях. Завдяки модифікації різних наноматеріалів вони можуть забезпечити високу специфічність і чутливість для розпізнавання біомолекул [4].



Рис. 2. Схема класифікації біосенсора

**Електрохімічні біосенсори.** Електрохімічні біосенсори являють собою аналітичні пристрої, які перетворюють біохімічні події, наприклад, взаємодію ферментів із субстратами або антитіл з антигенами, на електричні сигнали, такі як струм, напруга, імпеданс за допомогою електродів [5]. Два найбільш часто використовувані параметри в електрохімічному зондуванні – це амперометричний і потенціометричний. У потенціометрії аналітична інформація, отримана в процесі біорозпізнавання, перетворюється на потенціал, тоді як в амперометрії контролюється постійний потенціал струму, пов'язаний із відновленням або окисненням електроактивних видів [6]. Вони широко використовуються в діагностиці захворювань для виявлення відповідних маркерних білків, антитіл, послідовностей ДНК або клітин.

Розробка нових діагностичних інструментів привертає більше уваги до застосування на місці надання медичної допомоги. Це ставить перед біомедичними інженерами серйозну проблему розробки нового матеріалу в електроаналітичних методах, який може специфічно відчувати аналіти *in vivo*. З появою нанотехнологій біосенсори на основі наноматеріалів показали величезну можливість більш ефективного діагностування та виявлення біомаркерів захворювань. Важливі досягнення в цьому аспекті були отримані з використанням різних типів наноматеріалів, таких як металеві наночастинки [7], магнітні наноматеріали [8], вуглецеві матеріали [9] тощо для покращення електрохімічного сигналу біокаталітичних подій, що відбуваються на поверхні електрода.

Наноматеріали характеризуються властивостями, такими як високе співвідношення площі поверхні до об'єму, хороша електрокаталітична природа (наприклад: наноматеріали на основі вуглецю) і підвищена адсорбційна здатність (наприклад: наночастинки золота). Це уможливило виготовлення електрохімічних сенсорів, які демонструють покращену чутливість та вибірковість [10]. Наноструктури, такі як нанодропи (NW), нанотрубки (NT), наночастинки (NP) і квантові точки (QD), були широко досліджені для застосування у виготовленні біосенсорів, оскільки їх розмір можна порівняти з хімічними та біологічними агентами, які необхідно розпізнати. Наноматеріали використовуються для модифікації електрохімічних перетворювачів, щоб покращити передачу електронів, а також забезпечити біосумісне мікрооточення для біомолекул. Останнім часом робляться спроби використовувати наноструктуровані модифіковані електроди для моніторингу конкретних біологічних видів у середовищі *in vivo* [11], що відкриває можливість виявлення конкретної молекули в живих організмах у реальному часі [12]. Також є потреба у розробці сенсорів *in vivo* для безпосереднього дослідження природи біологічних процесів, оскільки зондування *in vitro* зазвичай не в змозі повністю відтворити умови живої системи. Було розроблено різні пристрої, які можуть здійснювати моніторинг біологічних подій у режимі реального часу, таких як м'язова дистрофія, запальні явища, інфекції або вивільнення білків у середовищі *in vivo*. Зондування *in vivo* потребує чутливих інструментів, які можуть контролювати сигнали всередині живої системи. Такі детектори повинні бути нетоксичними та біосумісними і також не заважати системі організму.

Усвідомлюючи потенційну роль електрохімічного датчика в різних сферах біології та медицини, в даному огляді вибірково розглянуто останні досягнення в біомедичних перспективах електрохімічного датчика.

*Датчики глюкози.* Електрохімічне зондування *in vivo* є добре відомим методом, який пропонує моніторинг аналітів у реальному часі завдяки імплантованим мікроелектродам [13]. Під час моніторингу рівня глюкози глюкозооксидаза іммобілізується на поверхні електрода для виявлення процесу перенесення електронів. Електрохімічні датчики глюкози вбудовані в кровоносні судини, які безпосередньо пов'язані з блоком обробки сигналу та проводами для подачі живлення. У цьому пристрої електрод модифіковано біосумісним матеріалом, кон'югованим з глюкозооксидазою, а потім покрито вибірково проникною мембраною для зменшення перешкод сигналу. Концентрація глюкози визначається кількісно шляхом вимірювання споживання кисню ( $O_2$ ) або виробництва перекису водню ( $H_2O_2$ ) шляхом електрохімічного окислення або відновлення, що відбувається на поверхні робочого електрода. Завдяки появі наноматеріалів електрохімічні сенсори набули великого значення, оскільки наноматеріали значною мірою зберігають активність ферментів або антитіл, пов'язаних з ними. Крім того, вони також сприяють швидкому переносу електронів між ферментом і електродом. Нанозолото, яке використовується в біосенсорі глюкози, продемонструвало семикратне збільшення швидкості передачі електронів і зменшення перешкод від  $O_2$ . Датчик глюкози *in vivo*, що імплантується в голку, з високою чутливістю був виготовлений з використанням нанопористого робочого електрода, прикрашеного наночастинками платини [14]. Два імплантованих електрохімічних датчика глюкози (CGMS System Gold і система GuardianTM від Medtronic MiniMed) мають схвалення FDA (Food and Drug Administration).

*Нейрохімічне зондування.* Аналіз позаклітинного хімічного середовища мозку може дати суттєве розуміння нейротрансмісії та фармакології у нейромедицині. Останнім часом значні застосування електрохімічного зондування *in vivo* знаходять в галузі неврології. Оскільки поведінку нейромедіаторів не можна ефективно контролювати в аналізах *in vitro*, розробка *in vivo* електрохімічних біосенсорів є важливою для розуміння роботи мозку [15]. Моніторинг *in vivo* надає інформацію про роботу нейронних мереж незалежно від того, активні вони чи ні. Оскільки нейрохімічні речовини є електрично активними, електрохімічні сигнали можна легко генерувати. Циклічна вольтамперометрія зі швидким скануванням (FSCV) є важливим електрохімічним методом. Це дозволяє вимірювати динаміку вивільнення та поглинання рівня ендогенних моноамінів. Цей метод використовується в основному для виявлення трьох основних нейромедіаторів: серотоніну (5-HT), дофаміну (DA) і норадреналіну (NE), оскільки вони можуть окислюватися при низькій напрузі. Завдяки впровадженню бездротової передачі даних з імплантованими датчиками, вимірювання рівня дофаміну та серотоніну в режимі реального часу були зроблені вільно у тварин, що рухаються [16]. В іншому дослідженні кінетика передачі сигналів оксиду азоту в мозку була виміряна за допомогою електрохімічних біосенсорів *in vivo* [17]. Було проведено вимірювання *in vivo* швидких змін позаклітинних концентрацій L-глутамінової кислоти в мозку ссавців під час нормальної активності нейронів або після надмірного вивільнення внаслідок епізодів аноксії або ішемії в тканині мозку [18].

*Виявлення іонів важких металів.* Останні звіти показали наявність іонів важких металів при різних типах захворювань, таких як рак і малярія [19, 20]. Сеча і кров визнані найкращим неінвазивним методом моніторингу широкого спектру іонів токсичних металів, виявлення яких важливо для розпізнавання різних захворювань. Свинець у сечі було виявлено за допомогою супермагнітних наночастинок оксиду заліза ( $Fe_3O_4$ ), функціоналізованих димеркаптобурштиновою кислотою (DMSA) за допомогою вольтамперометрії [21]. Рівень кадмію в сечі в першу чергу відображає загальне навантаження на організм. Рівні кадмію в крові вказують на нещодавній вплив, а не системне навантаження. Високий вміст іонів кадмію є частим наслідком раку нирок, кісток і легень.

*Проблеми та перспективи електрохімічних біосенсорів.* Медична діагностика потребує швидкої, точної та портативної системи, яка може бути легко доступна біля ліжка пацієнтів із системою моніторингу в реальному часі. В даний час електрохімічне зондування зіткнулося з проблемами, які потребують вирішення, щоб отримати високочутливу та вибірково систему для діагностики захворювань. Стабільність датчика є важливим параметром для одноразових та багаторазових електродів. У зв'язку з розвитком діагностичних пристроїв для надання медичної допомоги – портативність електрохімічного аналізатора також є важливою проблемою, яку необхідно вирішити. Ще одним важливим завданням для майбутнього розвитку електрохімічних сенсорів є зручний аналіз зразків *in vivo*. Загалом, ідеальний біосенсор *in vivo* має бути біосумісним, стабільним протягом

тривалого періоду часу, чутливим і нетоксичним для носія. Було використано різноманітні підходи та методи для вирішення проблем зондування *in vivo*. Оскільки багато наночастинок є біосумісними, токсичність, властиву іншим датчиками, може бути зведено до мінімуму. Наночастинки виявляють меншу реакційну здатність до білків і не мають здатності викликати імунну відповідь. Крім того, прогрес у зменшенні розмірів пристрою, бездротовому живленні та передачі даних обіцяє зменшити інвазивність багатьох електрохімічних датчиків *in vivo*. Висока специфічність сучасних електрохімічних аналізів може бути досягнута за допомогою елементів біорозпізнавання різних малих молекул (наприклад: фолієвої кислоти для виявлення ракових клітин або нещодавно використаних аптамерів). Матриці датчиків повинні бути розроблені для виявлення мультианалітів (метаболических маркерів, таких як глюкоза, лактат і сечова кислота). Необхідно розробити неінвазивні мікрофлюїдні біосенсори, здатні збільшувати розміри масивів і зменшувати об'єм зразка, щоб полегшити раннє виявлення та лікування захворювань. Потенціал електрохімічних датчиків є надзвичайно багатообіцяючим для врахування всіх останніх змін і, таким чином, рушійної сили до розвитку тестування на місці надання медичної допомоги та моніторингу захворювання. Досягнуто значні успіхи в розробці та застосуванні електрохімічних датчиків [2, 7, 12, 13, 16, 17, 20, 21]. Проте все ще існує простір для розвитку у розробці простих і економічно ефективних датчиків із покращеною чутливістю, часом відгуку та вибірковістю.

### Висновок

Розвиток сучасних біосенсорів відкриває перед суспільством величезний потенціал у сфері діагностики захворювань та аналізу біомаркерів. Високоінтегровані системи, що поєднують біомолекулярне розпізнавання та фізичні перетворювачі, дозволяють ефективно виявляти різні аналіти та одночасно виконувати кілька тестів, значно прискорюючи процес біохімічного аналізу. Електрохімічні біосенсори особливо корисні в діагностиці захворювань, де вони використовуються для виявлення маркерних білків, антитіл і послідовностей ДНК. Поява нанотехнологій підвищила ефективність біосенсорів, особливо тих, що базуються на наноматеріалах. Використання різних типів наноматеріалів, таких як металеві наночастинки, магнітні наноматеріали та вуглецеві матеріали, може покращити електрохімічні сигнали біокаталітичних явищ, що відбуваються на поверхні електродів. Однак розробка нових діагностичних інструментів також вимагає і розробки нових матеріалів, які є специфічними для електроаналітичних методів і можуть відчуватися аналітиком *in vivo*. Подальші дослідження та інновації в цій галузі можуть відкрити нові можливості для ранньої діагностики та ефективного лікування захворювань.

### Література

1. Pereira da Silva Neves, M. M., González-García, M. B., Hernández-Santos, D., & Fanjul-Bolado, P. (2018). Future trends in the market for electrochemical biosensing. *Current Opinion in Electrochemistry*, 10, 107–111. URL: <https://doi.org/10.1016/j.coelec.2018.05.002>.
2. Bassi A., Knopf G. Perspectives on Biosensor Technology. *Smart Biosensor Technology*. (2006). P. 617–628. URL: <https://doi.org/10.1201/9781420019506>.
3. Boudjemline, Leboukh & Gouzi, Hicham & Harek, Y. & Gouzi, Hicham. (2018). Development of Enzyme-Based Biosensor for Environmental Monitoring.
4. Singh, P., Pandey, S.K., Singh, J. *et al*. Biomedical Perspective of Electrochemical Nanobiosensor. *Nano-Micro Lett.* 8, 193–203 (2016). <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0077-x>.
5. Cho, IH., Kim, D.H. & Park, S. Electrochemical biosensors: perspective on functional nanomaterials for on-site analysis. *Biomater Res* 24, 6 (2020). <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0181-y>.
6. J. Wang, Sol-gel materials for electrochemical biosensors. *Anal. Chim. Acta* 399(1), 21–27 (1999). doi:10.1016/S0003-2670(99)00572-3.
7. J. Wang, D. Xu, A.N. Kawde, R. Polsky, Metal nanoparticle-based electrochemical stripping potentiometric detection of DNA hybridization. *Anal. Chem.* 73(22), 5576–5581 (2001). doi:10.1021/ac0107148.
8. S. Zhang, N. Wang, H. Yu, Y. Niu, C. Sun, Covalent attachment of glucose oxidase to an Au electrode modified with gold nanoparticles for use as glucose biosensor. *Bioelectrochemistry* 67(1), 15–22 (2005). doi:10.1016/j.bioelechem.2004.12.002.
9. J. Wang, Carbon-nanotube based electrochemical biosensors: a review. *Electroanalysis* 17(1), 7–14 (2005). doi:10.1002/elan.200403113.
10. J. Wang, Nanomaterial-based electrochemical biosensors. *Analyst* 130(4), 421–426 (2005). doi:10.1039/b414248a.
11. A. Zhu, Q. Qu, X. Shao, B. Kong, Y. Tian, Carbon-dot-based dual-emission nanohybrid produces a ratiometric fluorescent sensor for *in vivo* imaging of cellular copper ions. *Angew. Chem.* 124(29), 7297–7301 (2012). doi:10.1002/ange.201109089.

12. K.J. Cash, H.A. Clark, Nanosensors and nanomaterials for monitoring glucose in diabetes. *Trends Mol. Med.* 16(12), 584–593 (2010). doi:10.1016/j.molmed.2010.08.002.
13. G.S. Wilson, R. Gifford, Biosensors for real-time in vivo measurements. *Biosens. Bioelectron.* 20(12), 2388–2403 (2005). doi:10.1016/j.bios.2004.12.003.
14. H. Wu, J. Wang, X. Kang, C. Wang, D. Wang, J. Liu, Y. Lin, Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in platinum nanoparticles/graphene/chitosan nanocomposite film. *Talanta* 80(1), 403–406 (2009). doi:10.1016/j.talanta.2009.06.054.
15. M.J. Tierney, J.A. Tamada, R.O. Potts, L. Jovanovic, S. Garg, Cygnus Research Team, clinical evaluation of the glucowatch<sup>®</sup> biographer: a continual, non-invasive glucose monitor for patients with diabetes. *Biosens. Bioelectron.* 16(9), 621–629 (2001). doi:10.1016/S0956-5663(01)00189-0.
16. Y. Hu, K.M. Mitchell, F.N. Albahadily, E.K. Michaelis, G.S. Wilson, Direct measurement of glutamate release in the brain using a dual enzyme-based electrochemical sensor. *Brain Res.* 659(1), 117–125 (1994). doi:10.1016/0006-8993(94)90870-2.
17. C.J. Griessenauer, S.Y. Chang, S.J. Tye, C.J. Kimble, K.E. Bennet, P.A. Garris, K.H. Lee, Wireless instantaneous neurotransmitter concentration system: electrochemical monitoring of serotonin using fast-scan cyclic voltammetry—a proof-of-principle study. *J. Neurosurg.* 113(3), 656–665 (2010). doi:10.3171/2010.3.JNS091627.
18. F. Bedioui, N. Villeneuve, Electrochemical nitric oxide sensors for biological samples—principle, selected examples and applications. *Electroanalysis* 15(1), 5–18 (2003). doi:10.1002/elan.200390006.
19. A. Nemiroski, D.C. Christodouleas, J.W. Hennek, A.A. Kumar, E.J. Maxwell, M.T. Fernández-Abedul, G.M. Whitesides, Universal mobile electrochemical detector designed for use in resource-limited applications. *PNAS* 111(33), 11984–11989 (2014). doi:10.1073/pnas.1405679111.
20. W. Yantasee, K. Hongsirikarn, C.L. Warner, D. Choi, T. Sangvanich, M.B. Toloczko, C. Timchalk, Direct detection of Pb in urine and Cd, Pb, Cu, and Ag in natural waters using electrochemical sensors immobilized with DMSA functionalized magnetic nanoparticles. *Analyst* 133(3), 348–355 (2008). doi:10.1039/b711199a.
21. J. Kudr, H.V. Nguyen, J. Gumulec, L. Nejdl, I. Blazkova, B. Ruttkay-Nedecky, R. Kizek, Simultaneous automatic electrochemical detection of zinc, cadmium, copper and lead ions in environmental samples using a thin-film mercury electrode and an artificial neural network. *Sensors* 15, 592–610 (2015). doi:10.3390/s150100592.