

BIOSENZORI I NJIHOVE PRIMENE U MEDICINI

Jovana Mandić

mandic.jovana@yahoo.com

REZIME

Biosenzori su samostalni analitički uređaji za detekciju hemijskog i biološkog materijala. U širem smislu mogu se posmatrati kao uređaji koji poseduju biološki aktivnu komponentu koja uz pomoć fizičko-hemijskog detektora pretvara biološki impuls u električni signal. Model za kreiranje biosenzora su bili upravo biološki senzori u živim organizmima, osetljivi na različite metaboličke parametre kao što su urea, glukoza, holesterol u krvi i slično. U medicini su biosenzori pronašli široku upotrebu. Koriste se u dijagnostici bolesti, za potrebe raznih vrsta snimanja, medicinske terapije i za praćenje zdravstvenog stanja pacijenata.

Cilj ovog rada je opisati tehnologije biosenzora, njihove karakteristike i perspektivne primene kao i izazove koje je potrebno prevazići prilikom implementacije biosenzora.

Ključne reči: biosenzori, biosenzori glukoze, nanotehnologija, pametni zdravstveni sistemi.

BIOSENSORS AND THEIR APPLICATION IN MEDICINE

ABSTRACT

Biosensors are analytical devices for the detection of chemical and biological material. In a broader sense, they can be seen as a devices that has a biologically active component that, with the help of a physical chemical detector, converts a biological impulse into an electrical signal. The model for creating biosensors was biological sensors in living organisms sensitive to various metabolic parameters such as urea, glucose, cholesterol in the blood, etc. In medicine, biosensors have found a wide use. They are used in the diagnosis of diseases, for the purposes of various medical imaging, medical therapy and for monitoring the health status of patients.

The aim of this paper is to describe biosensor technologies, their characteristics and prospective applications, as well as the challenges that need to be overcome when implementing biosensors.

Key words: biosensors, glucose biosensors, nanotechnology, smart health systems.

1. UVOD

Napredak bežičnih mreža, uz primene u medicini, stvorio je uslove za formiranje integrisanog informacionog zdravstvenog sistema. Upravo su senzori glavna komponenta jednog takvog sistema. Vremenom, potrebe za naprednim medicinskim uređajima postajale su sve veće. Elektrohemijska priroda bioloških ćelija može se ispitati merenjem različitih parametara kao što su naelektrisanje, magnetno polje i magnetni fluks. Rezultati ovih fizičkih varijabli neophodni su u istraživanju skeletnog, srčanog i nervnog sistema. Istraživanja na nivou molekula,

putem senzora koji detektuju gasove, toksine, proteine, DNK, RNK, bakterije i viruse, veoma su bitna za dijagnozu bolesti kao što su kancer i dijabetes. Pored medicinske dijagnostike, upotreba biosenzora danas je prisutna i u mnogim drugim oblastima, kao što su praćenje i lečenje bolesti, ali i u farmaceutskim i biohemijskim istraživanjima.

Postoji više vrsta biosenzora. Svaki poseduje jedinstvene funkcije i namenjen je za izvršavanje jedne vrste zadatka. Danas su u velikoj meri popularni imunosenzori i DNK senzori koji se mogu progutati. Imunosenzori se često koriste u cilju otkrivanja specifičnih vrsta antitela. Ova vrsta biosenzora poseduje visok nivo selektivnosti, tako da se selektivno vezuju za određene patogene i štetne organizme u sistemu domaćina. DNK biosenzori se najčešće koriste u oblasti molekularne i medicinske dijagnostike. Ova vrsta senzora se smatra najefikasnijom jer njihove sposobnosti prevazilaze sposobnosti drugih biosenzora zbog svoje dostupnosti, selektivnosti i vremena odziva. Ovi senzori su se pokazali veoma efikasnim u dijagnostici onkoloških oboljenja i oboljenjima izazvanih toksinima. Za razliku od ostalih vrsta senzora, ovaj tip se pokazao kao efikasno rešenje s obzirom da ne zahteva korišćenje skupe opreme.

2. ISTORIJAT I TIPOVI BIOSENZORA

Počeci biosenzora su vezani za radove L.C. Clark-a i C. Lyons-a 60-ih godina prošlog veka. Profesor L.C. Clark je 1956. godine objavio rad o razvoju sonde za kiseonik na osnovu kog je proširen opseg analita koji su se mogu izmeriti. Prvi enzimski biosenzor razvijen za potrebe medicinskih nauka i merio je koncentraciju glukoze u krvi. Ovaj biosenzor funkcionisao je na principu dodavanja enzima glukoza-oksidaze u membranu za dijalizu preko sonde za kiseonik. Dodavanje glukoze u proporcionalnom odnosu uticao je na smanjenje novoa koncentracije kiseonika. Prvi biosenzor detaljnije je opisan u radu "Enzimaska elektroda". Par godina kasnije, autori S.J. Upidike i G.P. Hicks opisali su sličan uređaj koji je koristio isti enzim glukoza-oksidazu, ali je u ovom slučaju bio imobilizovan u poliakrilamindom gelu na površini elektrode za kiseonik. U kasnijem periodu, veliki broj načnika i istraživača počinje da koristi koncept biosenzora, kombinujući različite enzime i elektrohemijske senzore [1,2].

Svaki biosenzor se sastoji od dve glavne komponente, a to su bioreceptor i transduktor. Bioreceptor ili prijemnik je osetljiv deo biosenzora sa izrazito selektivnim sposobnostima za identifikaciju. Selektivnost bioreceptora zasnovana je na mehanizmima za prepoznavanje antitela, bakterija, virusa, patogenih organizama i sl. Transduktor ili detektor je uređaj koji detektuje biohemijsku promenu tako što se generisanje produkta promene pretvara u električni signal.

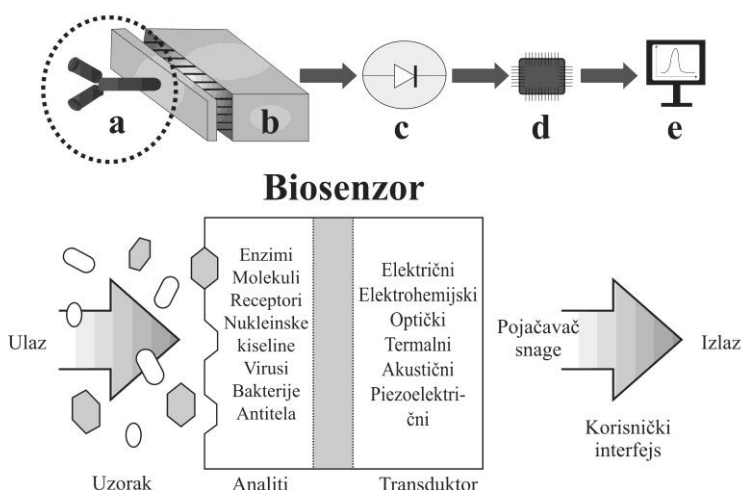
2.1. Komponente biosenzora

Biosenzor je elektronski uređaj koji integriše biološki analit, sa elektronskom komponentom uz pomoć koje se stvara električni signal. Elektronska komponenta prenosi dalje fiziološke informacije ukoliko je detektovano prisustvo biološko-hemijskih materija. Širok spektar inovacija u tehnici i biohemijskom inženjerstvu omogućava razvoj biosenzora.

Inovacije u oblasti biomaterijala omogućavaju sve veću osetljivost, tako da novi biosenzori mogu prepoznati analite koji su količinski na nivou samo jednog molekula.

U širem smislu tipična struktura biosenzora prikazana je na slici 1 i obuhvata [3]:

1. Analit - supstanca koja se detektuje.
2. Bioreceptor - biološki element koji poseduje mogućnost detekcije analita. Bioreceptori mogu biti enzimi, DNK i antitela. Kada bioreceptor dođe u kontakt sa analitom, dolazi do procesa generisanja signala i to se naziva bioprepoznavanje.
3. Transdudktor - deo biosenzora koji se sastoji od poluprovodnog materijala, odnosno nanomaterijala i pretvara jedan oblik energije u drugi. Transdudktor detektuje biohemijsku modifikaciju koju konvertuje u električni signal.
4. Elektronika biosenzora – elektronsko kolo koje konvertuje analogni u digitalni signal. Ovaj deo biosenzora omogućava obradu transdukovanog signala i priprema ga za prikaz.
5. Displej - komponenta koja se sastoji od kombinacije hardvera i softvera, odnosno ekrana koji korisniku prikazuje odziv biosenzora. Izlazni signal prikazan na displeju zavisi od zahteva korisnika i može biti numerički, tabelarni, slikovni ili grafički.



Slika 1. Šematski prikaz strukture biosenzora koja uključuje bioprepoznavanje, interfejs i transdukциони element i sadrži a) analit, b) bioreceptor, c) transdudktor, d) elektroniku biosenzora i e) displej koji prikazuje prikupljene rezultate.

Moguća je kombinacija različitih tipova bioreceptora i transdudktora. Da bi biosenzor bio funkcionalan, njegove komponente moraju biti kompatibilne. Određene kombinacije mogu poboljšati svojstva bioreceptora, i osim toga biti jeftinije i jednostavnije za upotrebu. Najčešće kombinacije su potenciometrijske i

amperometrijske ćelije sa enzimima. Takođe, u širokoj upotrebi su i kombinacije enzima i poluprovodnika [2].

2.2. Funkcionalne karakteristike

Da bi biosenzori bili visoko funkcionalni, potrebno je da poseduju određene osobine, i da ispunjavaju neophodne zahteve u pogledu glavnih atributa biosenzora [2,4]:

1. Selektivnost je osobina biosenzora da reaguje samo na određene analite. Neophodno je da je bioreceptor u stanju da u uzorku, koji se sastoji od različitih vrsta primesa i biomaterije, otkrije količinu od samo jednog molekula ciljnog analita.
2. Merljivost je sposobnost biosenzora da rezultat biohemijske reakcije u bioreceptoru, pomoću transduktora konvertuje u izlazni, električni signal.
3. Osetljivost je sposobnost biosenzora da u malom uzorku detektuje određeni analit.
4. Stabilnost je jedna od najbitnijih osobina biosenzora. Uslovi u kojima se biosenzor nalazi često su promenljivi, tako da je neophodno da rad senzora ostane stalan i nepromenjen bez obzira na uticaje okoline. Smetnje u mernom prostoru mogu izazvati odstupanje u izlaznim signalima, odnosno uticati na preciznost i tačnost biosenzora.
5. Reproducibilnost ili tačnost je sposobnost biosenzora da pri ponavljanju merenja, koje se izvodi u istim uslovima, više puta proizvede identičan rezultat.
6. Linearost je osobina koja pokazuje tačnost proizvedenih rezultata. Matematički se može prikazati sledećom formulom: $y=mc$, gde je c koncentracija analita, y je izlazni signal, dok je m osetljivost biosenzora.

2.3. Klasifikacija biosenzora

Postoji više faktora koji određuju klasifikaciju senzora. Bioreceptori predstavljaju glavnu komponentu senzora i obično se na osnovu njih određuje tip biosenzora [5]. Na osnovu bioreceptora, biosenzori se mogu biti: enzimski biosenzori, koji predstavljaju najveću grupu biosenzora; imunosenzori koji poseduju visoku osetljivost i najkorisniji su u dijagnostici bolesti; i biosenzori na bazi nukleinske kiseline koji imaju visok stepen detekcije na molekularnom nivou. Transduktor je druga važna komponenta koja određuje vrstu biosenzora i služi za klasifikaciju unutar tog tipa [2,5]. Na osnovu transduktora, biosenzori se mogu podeliti na elektrohemijske koji mogu biti amperometrijski, potenciometrijski i konduktometrijski; elektronske, termalne, elektrooptičke i mehaničke. Najčešće korišćeni transduktori u biosenzorima prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Tipovi transduktora u biosenzorima

Transduktori	Primeri	Biološke materije
Elektrohemijski		Enzimi, imunološki sistem, gasovi, ćelije i tkivo
1. Amperometrijski	1. Klarkova elektroda kiseonika	
2. Potenciometrijski	2. Redoks elektrode, jonske selektivne elektrode, efekt tranzistori, potenciometrijski senzori	
3. Kondukometrijski	3. Platinaste ili zlatne elektrode za merenje promena u provodljivosti	
Optički	Fotodioda, integrisani optički senzori	Enzimi, imunološki analiti
Akustični	Piezoelektrični kristali	Toksični gasovi i isparenja, antitela
Kalorimetrijski	Termoelement, termistor	Enzimi, gasovi, zagađivači, antibiotici

Od biosenzora, najviše su istraženi i korišćeni elektrohemijski biosenzori. Amperometrijski biosenzori prve generacije imali su direktan prenos elektrona koji su se oslobađali sa elektroda. Druga generacija, razvijena posle nekoliko godina, funkcionisala je upravo suprotno, odnosno koristila je elektrone koji su se prenosili na elektrode. Ovi senzori obično imaju dve elektrode i mere količinu proizvedene struje usled elektrohemijske oksidacije na radnoj elektrodi u odnosu na referentnu elektrodu. Potenciometrijski senzori mere naelektrisanje na radnoj elektrodi prilikom interakcije analita i bioreceptora. Kondukometrijski biosenzori detektuju promene u provodljivosti između dve elektrode usled biohemijske reakcije.

Optički biosenzori koriste optičku transdukciju, uz ultraljubičasto i infracrveno zračenje kao i metode transmisije i refleksije. Ova vrsta biosenzora obično kao detektore koristi poluprovodničke fotodiode i uglavnom se koristi za merenje koncentracije analita. Akustični senzori kao metodu detekcije koriste vibracije. Sastavljeni su od piezoelektričnih kristala koji vibriraju prilikom promene primenjenog električnog polja. Kalorimetrijski biosenzori detektuju količinu proizvedene toplote koju emituje analit i najčešće se koriste za merenje holesterola i glukoze. Ovi biosenzori menjaju svoju električnu otpornost u zavisnosti od količine detektovane toplote [6].

3. NANOMEDICINA

Nanomedicina je relativno nova grana u oblasti nauke i tehnologije. Biosenzori izgrađeni od nanomaterijala omogućavaju bolju dijagnostiku i otkrivanje bolesti u ranoj fazi, tako što omogućavaju detekciju na molekularnom nivou, uz pomoć biohemijskog i biofizičkog signala. Nano-biosenzori se takođe koriste u otkrivanju ranih faza kancera, dijabetesa, kardiovaskularnih bolesti, kao i

najzastupljenijih neurodegenerativnih bolesti, u koje spadaju pre svih Parkinsonova i Alchajmerova bolest.

Dokazano je da su mnoge bolesti praćene karakterističnim mirisima ljudskog daha. Detekcija određenih mirisa može pružiti precizniju dijagnostiku, a samim tim i uspješnije lečenje pacijenta. Proučavanje hemijskog sastava ljudskog daha pokazalo je vezu između isparljivih jedinjenja i ljudskih bolesti. Upravo analiza tih hemijskih jedinjenja može pokazati o kojoj bolesti se radi. Zbog toga su neophodni nanosenzori visoke osetljivosti. Koncentracija isparljivih jedinjenja u dahu čoveka je obično niska, dok je koncentracija vlažnosti uvek visoka. Nacionalna vazduhoplovna i svemirska agencija (engl. NASA) je razvila koncept nanosenzora koji predstavlja kombinaciju različitih hemijskih senzora koji istovremeno mere parametre vlažnosti, temperature i koncentraciju isparljivih hemijskih jedinjenja. Podaci prukupljeni sa čipa ovog senzora prenose se bežičnim putem na računarski terminal odgovarajuće medicinske ustanove koja je zadužena za praćenje stanja pacijenta. Ova metoda je potpuno neinvazivna, i pomaže pacijentima ali i pružaocima medicinske nege uštedu resursa, vremena i smanjenje rizika od neadekvatne dijagnoze i lečenja [7].

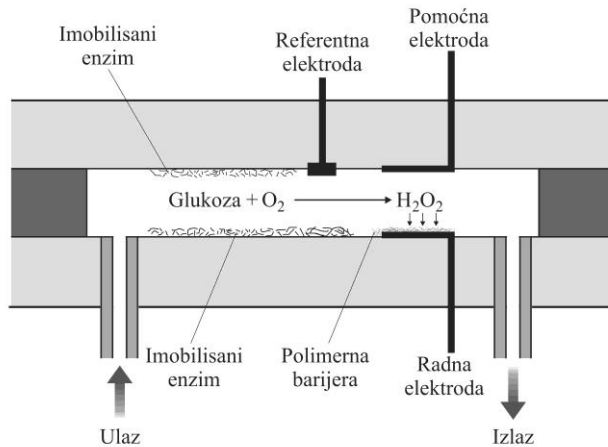
Što se nanosenzora tiče njihov napredak je u velikoj meri je ubrzalo otkriće grafen-oksida. Grafen-oksid debljine samo jednog atoma ima izuzetna fizičko-hemijska svojstva. Ovakvi nanosenzori omogućavaju detekciju supstance na količinskom nivou od samo jednog molekula.

4. BIOSENZOR GLUKOZE

Dijabetes ili šećerna bolest je hronična bolest iz grupe metaboličkih poremećaja. Do dijabetesa dolazi kada pankreas prestaje da luči insulin, ili je organizam u nemogućnosti da ga efikasno iskoristi. U tom slučaju dolazi do povišenog šećera u krvi, odnosno hiperglikemije koja može izazvati niz komplikacija opasnih po život. Prema svetskoj zdravstvenoj organizaciji, procenjuje se da će broj ljudi obolelih od dijabetesa do 2030. godine dostići 643 miliona [9]. Pored toga, veliki broj ljudi ne zna da boluje od ove bolesti ili im nije postavljena tačna dijagnoza, zbog nedovoljno razvijenog zdravstvenog sistema.

Biosenzor glukoze je najefikasniji biosenzor zasnovan na elementima za prepoznavanje enzima. Medicinska potreba za pronalaskom uređaja koji će na jednostavan i efikasan način pratiti nivo glukoze u krvi, rezultovala je intenzivnim naporima da se razviju senzori glukoze, a posebno implantabilni elektrohemijjski senzori glukoze, za praćenje nivoa glukoze u krvi u realnom vremenu. Uglavnom se nivoi glukoze ne prate direktno u krvi, nego u u vanćelijskoj tečnosti potkožnog tkiva. Na slici 2. je prikazana je direktna interakcija glukoze se imobilisanim enzimom, pri kojoj dolazi do amperometrijske transdukcije preko elektrode. Trenutno, većina biosenzora glukoze koristi enzim glukoza-oksidge kao svoj bioreceptor prepoznavanja koji katalizuje oksidaciju glukoze u glukonolakton [10].

Amperometrijski signal indukovano redukcijom kiseonika koristi se za određivanje nivoa glukoze u krvi. Pored kiseonika, može se koristiti vodonik-peroksid oksidovan elektrohemijjskim putem.



Slika 2. Dijagram senzora glukoze koji prikazuje konfiguraciju elektroda, polimerne barijere na radnoj elektrod, i površinu na kojoj je imobilisan enzim (glukoza oksidaza).

5. TEKUĆI IZAZOVI

Senzori koji se koriste u ljudskom telu suočavaju se sa mnogo više problema, u naučnom i tehnološkom pogledu, nego tradicionalni senzori. Što se dijagnostike tiče, poželjno je da senzori budu manji. Međutim, upravo zbog smanjenja, oni se suočavaju sa određenim izazovima. Manji senzori imaju veću osetljivost ali im je potrebno više vremena kako bi se povezali i detektovali molekule. Duže vreme detekcije znači duže vreme provedeno u određenoj sredini što može dovesti do kontaminacije, odnosno do netačnog rezultata.

Dizajniranje implantabilnog biosenzora koji je bezbedan za upotrebu je jedan od najvećih izazova. Tkivo koje je u blizini senzora je izloženo kontinuiranom toplotnom zračenju, kao i zračenju bežičnih mreža i dejstvu nano materijala. Pored toga, kvar biosenzora ili problem sa napajanjem, može rezultovati nepoželjnim hirurškim intervencijama. Zbog toga je neophodno ispitivanje i testiranje koje može trajati mesecima i godina pre bilo kakve konačne upotrebe. Pored toga, neophodno je rešiti problem napajanja, odnosno pronaći rešenje koje će pomoći implantabilnim sensorima veću količinu dostupne energije, kako bi kontinuirana upotreba mogla biti duža.

Sa druge strane, veliki napredak u raznim tehnologijama doprineo je mnogo boljem razumevanju biohemijskih procesa, a samim tim i većem znanju, potrebnom da bi se upotrebom svih tih različitih tehnologija prevazišli potencijalni izazovi.

6. ZAKLJUČAK

U poslednjih 50 godina, koliko traje njihov razvoj, biosenzori su stekli veliku popularnost, najviše u detekciji i lečenju dijabetesa. Veliki napredak u tehnologiji omogućio je povećano interesovanje za nosive uređaje koji omogućavaju kontinuirano praćenje parametara organizma. Druge različite

tehnologije, namenjene detekciji ključnih analita kod ostalih često zastupljenih bolesti i metaboličkih poremećaja, se takođe intenzivno razvijaju.

Nanotehnologija omogućava proizvodnju biosenzora nano veličine koji mogu biti implantirani u telo pacijenta i prepoznavati ključne analite. Cilj kome se teži kod nanotehnologija je bioautomatizovana detekcija u realnom vremenu, odnosno daljinska provera zdravlja i praćenje najvažnijih vitalnih parametara kako bi bolesti bile otkrivene na vreme.

Uprkos tome, njihovu potpunu implementaciju i dalje usporavaju ključna pitanja koja je potrebno rešiti, a to su cena, jednostavnost, sigurnost ali i određena etička pitanja. Nanouređaji se razvijaju velikom brzinom, ali njihova upotreba je i dalje ograničena. Stoga se očekuju novi pronalasci u oblasti nano-mreža kako bi komunikacija između medicinskih uređaja bila znatno poboljšana. Ukoliko se naučnim istraživanjima i tehnološkim ispitivanjima prevaziđu tekući izazovi ali i realizuju komercijalno održivi biosenzori, može se zaključiti da će oni u budućnosti u velikoj meri doprineti razvoju inteligentnog zdravstvenog sistema.

7. LITERATURA

1. Palchetti I., Mascini M., : Biosensor Technology: A Brief History. Sensors and Microsystems, Lecture Notes in Electrical Engineering, Springer, Dordrecht, 2010. Dostupno na: https://doi.org/10.1007/978-90-481-3606-3_2
2. Popović M.,: *Senzori tečnosti i gasova*, Zavod za udžbenike i nastavna sredstva "Srpsko Sarajevo", Sarajevo, 2003.
3. Bhalla N., Jolly P, Formisano N, Estrela P.: *Introduction to biosensors*. Essays Biochem. 2016.
4. Scheller F.W., Hintsche R., Pfeiffer D., Schubert F., Riedel K., Kindervater R., : *Biosensors: Fundamentals, applications and trends*. Sensors and Actuators B: Chemical. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/0925-4005\(91\)80198-S](https://doi.org/10.1016/0925-4005(91)80198-S)
5. Naresh V., Lee N., : *A Review on Biosensors and Recent Development of Nanostructured Materials-Enabled Biosensors*, Sensors 2021. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/s21041109>
6. Halilović A., Merdan E., Kovačević Ž., Pokvić L. G., : *Review of Biosensors for Environmental Field Monitoring*, 8th Mediterranean Conference on Embedded Computing (MECO), 2019.
7. NASA: *Nanosensor Array for Medical Diagnoses*, 2019.
8. Newman J.D., Turner A.P., : *Home blood glucose biosensors: a commercial perspective*, Biosens Bioelectron, 2005.
9. International Diabetes Federation, IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. Dostupno na: <https://www.diabetesatlas.org>
10. Chambers J.P., Arulanandam B.P., Matta L.L., Weis A., Valdes J.J., : *Biosensor recognition elements*, Curr Issues Mol Biol, 2008.