

Electrodos para medir Glucosa (Junio 2004)

Paola Sciarra Gatti, psciarra@montevideo.com.uy

Monografía vinculada a la conferencia del Ing. Quim. Juan Bussi sobre Biosensores del 20 de abril de

2004

Resumen—En el siguiente trabajo se tratará específicamente, a los biosensores de glucosa. Dentro de este tipo de dispositivos hablaremos desde el primer biosensor de glucosa de Clark, hasta los electrodos de enzimas amperométricos, y los recientes biosensores implantables. Finalmente se mostrarán algunos de los sensores que se encuentran hoy en plaza y su valor comercial.

Palabras Clave—Biosensores, biocomponentes, electrodos, glucosa, mediadores, transductores .

I. INTRODUCCION

PODEMOS definir un biosensor como un instrumento o dispositivo analítico compacto que contiene un elemento de detección biológico o derivado biológicamente (bioreceptor) acoplado a un transductor físico-químico que convierte la señal biológica en una señal electrónica. Esta señal es proporcional al compuesto o grupo de compuestos que se quiere determinar y puede recoger información cualitativa o cuantitativa.

El bioreceptor es una biomolécula, por ejemplo una enzima, que reconoce un determinado analito, mientras que el transductor, que puede ser electroquímico, óptico o piezoeléctrico, es quien se encarga de convertir el evento reconocido en una señal que pueda ser medida.

Lo más destacable de estos dispositivos es que devuelven la información en tiempo real sobre parámetros clave en procesos de muy distintas áreas.

El primer biosensor fue descrito por Clark y Lyons en 1962.

Las enzimas son utilizadas como bioreceptores, debido a la capacidad que poseen para reconocer una molécula específica. Existen otros tipos de bioreceptores tales como los anticuerpos o los ácidos nucleicos.

TABLA I
COMPONENTES DE UN BIOSENSOR

Biocomponentes	Transductores
Encimas	Electroquímicos
Anticuerpos	Amperométrico
Fragmentos de ADN	Potenciométrico
Células Bacterianas	Conductimétrico
Tejido (animal o vegetal)	Óptico
	Acústico
	Térmico

Uno de los requerimientos de los biosensores, es la inmovilidad de la molécula del bioreceptor en el entorno del transductor. Dicha inmovilidad se realiza, ya sea mediante atrapamiento físico, o por medio de uniones químicas.

Como fue mencionado anteriormente, un transductor debe ser capaz de convertir el bioreconocimiento en una señal medible.

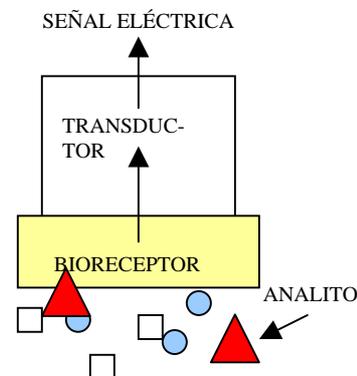
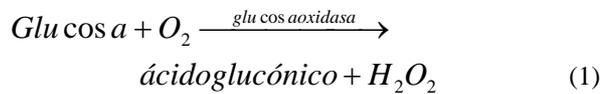


Fig. 1. Mecanismo de funcionamiento de un biosensor.

II. BIOCENSORES DE GLUCOSA

A. Principio de Funcionamiento

La enzima glucosa oxidasa es la utilizada, en los biosensores de glucosa, como bioreceptor. Dicha enzima es la encargada de catalizar la reacción.



En la reacción anterior los productos son, el ácido glucónico y el peróxido de hidrógeno.

Existen tres tipos de transductores que pueden ser utilizados para medir la concentración de glucosa:

--Sensores de oxígeno, los cuales miden la concentración de oxígeno, convirtiéndola en una corriente eléctrica.

--Sensores de PH, miden la producción de ácido glucónico, convirtiendo el cambio de PH en una diferencia de potencial.

--Sensores de peróxido. Estos sensores miden la concentración de peróxido, convirtiendo dicha concentración en una corriente eléctrica.

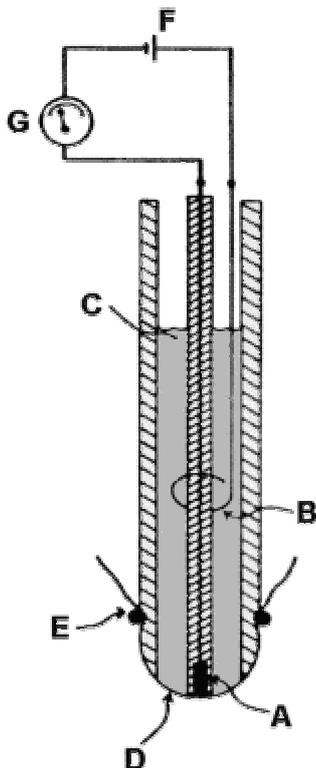


Fig. 2. Electrodo de Clark.

El electrodo de Clark consiste en un electrodo de Pt. (A) y un electrodo Ag/AgCl de referencia (B), siendo la membrana (D) de teflón.

B. Requerimientos para un Biosensor de Glucosa

Los requerimientos que debe cumplir un biosensor de glucosa, para que sea viable su comercialización son:

- Exactitud.
- Buena resolución.
- Rango dinámico.
- Velocidad de respuesta.
- Compensación de temperatura.
- Insensibilidad frente a interferencias eléctricas o del medio ambiente.
- Posibilidad de calibración y testeo.

C. Electrodo de Enzimas Amperométricos

Este tipo de dispositivos funciona inmovilizando la enzima en la superficie del electrodo y el producto de la reacción es detectado anódica o catódicamente.

En el primer electrodo de enzimas de Clark, fabricado por Yellow Springs Industries [10], la enzima glucosa oxidasa era mantenida junto a un electrodo de platino, entre membranas. La glucosa oxidasa cataliza la reacción mostrada en la ecuación (1). Uno de los productos de dicha reacción, peróxido de hidrógeno, es oxidado a 700mV (versus a un electrodo calomel saturado de referencia) en la superficie del electrodo de platino, produciendo una corriente eléctrica que es directamente proporcional a la cantidad de glucosa en la muestra.

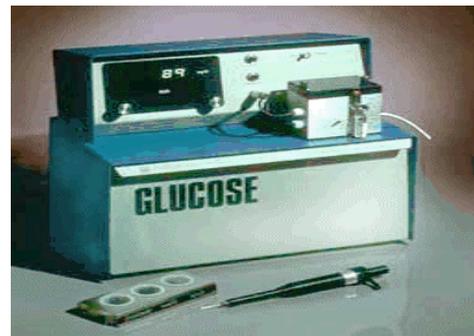


Fig. 3. Primer electrodo de enzimas fabricado por YSI, <http://www.ysi.com/>.

Esta misma tecnología sigue siendo utilizada hoy en día. Algunos de los sensores de este tipo que pueden ser encontrados en plaza como 'Home test meters' son, por ejemplo, el 'Freestyle meter' del laboratorio Therasense y el 'One touch meter' de Lifescan.

La utilización de membranas en este tipo de dispositivos permite eliminar la interferencia debida a otras sustancias electro activas. Se han desarrollado varias combinaciones membrana-enzima, siempre manteniendo el siguiente criterio:

- La membrana entre el electrodo y la capa de enzima

debe permitir el pasaje del peróxido de hidrógeno, pero no el de otras sustancias interferentes.

--La membrana entre la capa de enzima y la muestra, debe permitir al analito entrar en la capa de enzima.

D. Electrodo de Enzimas 'in vivo'

Existen biosensores de glucosa implantables (subcutáneamente), por ejemplo, para monitorear el nivel de glucosa intestinal [13], pudiendo ser éstos, sensores de monitoreo continuo o no.

El dispositivo mostrado (Fig.4), es uno de los tantos dispositivos de monitoreo continuo que existen en plaza hoy en día [13]. Este se utiliza durante un período de 72 horas y su uso permite realizar las actividades cotidianas, siendo además de fácil calibración.



Fig. 4. Sistema bio-químico de sensado de glucosa (minimed continuous glucose monitoring system; http://www.minimed.com/files/cgms/patient_pg2.htm).

El problema que presenta este tipo de sensores es la rápida pérdida de la sensibilidad debido a:

--Saturación u obstrucción de las membranas.

--Disfunción de las enzimas debido a la toxicidad de metales pesados.

--Niveles inestables de oxígeno en los tejidos subcutáneos.

La precisión de los mencionados sistemas de monitoreo en tiempo real, requiere recalibraciones frecuentes del sensor 'in vivo', utilizando un sistema externo de medición de glucosa como referencia.



Fig. 5. Biosensor de glucosa implantable.

El sensor mostrado (Fig. 5), está implantado a una profundidad de 10-15mm y tiene un ancho de menos de 1mm.

Medical Research Group Corporation (Slymar, CA) desarrolló un biosensor de glucosa implantable dentro del torrente sanguíneo, para medición a largo plazo. El dispositivo está también basado en la inmovilización de la glucosa oxidasa en un electrodo de Platino, sin embargo, lo medido es la consumición de oxígeno en vez de la producción de peróxido.

El sistema en miniatura se parece a un marcapasos, con dos guías intra vasculares flexibles.

Los sensores de oxígeno son utilizados para medir la disminución de oxígeno que se produce, en proporción a la oxidación de la glucosa.

Se han logrado excelentes resultados en cuanto a la estabilidad a largo plazo, sin requerimientos de recalibración frecuentes.

Es importante tener en cuenta, que la obstrucción que se produce en las membranas, limita el uso de dichos sensores a un promedio de seis meses de uso continuado.

III. MEDIADORES

A. Utilización de Mediadores

Según estudios recientes, se ha estado trabajando con el objetivo de minimizar la dependencia del oxígeno y el nivel de ruido de los electrodos de enzimas, reemplazando el oxígeno en la reacción con electrones (aceptores/donadores), también conocidos como mediadores [3].

En el caso de la reacción con la que hemos estado trabajando, con la enzima glucosa oxidasa, la reacción sería la mostrada a continuación:

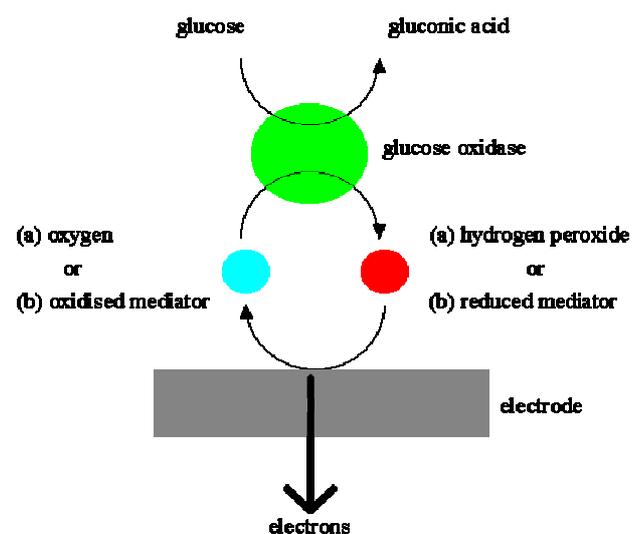
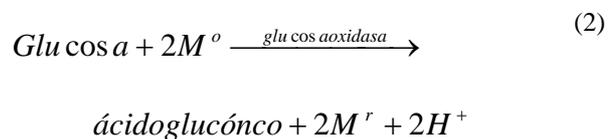


Fig. 6. Esquema de la reacción.

En la ecuación anterior M^o se refiere a la forma oxidada del mediador, y M^r se refiere a la forma reducida del mismo.

Uno de los mediadores más utilizados para este tipo de

biosensores es el ferroceno [3].

B. Principio de Funcionamiento

El principio de funcionamiento de los mediadores consiste en que presentan potenciales de oxidación mas bajos que el peróxido de hidrógeno, por lo tanto pueden ser operados a potenciales mas bajos (200-500mV versus calomel saturado). Por lo tanto son menos susceptibles a componentes que producen interferencias electroacivas, como el ácido úrico o el ácido ascórbico, que están presentes en los fluidos corporales.

Estos estudios de investigación han llevado a laboratorios tales como Roche, Bayer, Abbot y Therasense, a desarrollar los actuales test de glucosa caseros.



Fig. 9. Sistema de monitoreo de glucosa(One Touch; <http://www.Lifescan.com>).

El precio del dispositivo mostrado (Fig. 9), es de US\$ 54.90, y es un producto de Laboratorios Lifescan [8].

IV. PRODUCTOS

A continuación se va a presentar una serie de productos que pueden ser adquiridos en nuestro mercado o vía Internet. Los precios están actualizados a la fecha de presentación de la monografía.



Fig. 7. Dispositivo para medir la concentración de glucosa en sangre (Precision Q4D; <http://www.medicalhomeproducts.com/products/homeglucosetestmeters.htm>).

El dispositivo mostrado (Fig. 7), tiene un valor de US\$ 40.99, siendo posible adquirirlo vía internet [7], ya que no se encuentra disponible en plaza.



Fig. 8. Test para medir glucosa en sangre (Uni Stick2 Lancing Device; <http://www.Lifescan.com>).

El dispositivo mostrado (Fig. 8) tiene un valor de US\$ 30.00, siendo posible su compra mediante la Asociación de Diabéticos del Uruguay [11].



Fig. 10. Test de glucosa casero (Blood Glucose Monitoring System(G141.101); <http://www.AnconLabs.com/products.htm>).

Este producto puede ser adquirido a un precio de US\$ 69.90, y es distribuido por Laboratorios Ancon [9].

En el Mercado Uruguayo existe una enorme variedad de dispositivos para medir la concentración de glucosa en sangre. Uno de los mas recientes en nuestro mercado es el Gluco Test de Laboratorios Roche [14], cuyo precio es \$U 990.

Cabe destacar la importancia que tiene la investigación en el área de desarrollo de nuevos productos que tengan como prioridad la sencillez en los dispositivos de medición caseros, y por supuesto, la menor invasividad posible. Las últimas investigaciones han arrojado al mercado el llamado Gluco Watch, un reloj de pulsera que cuenta con un biosensor que mide la concentración de glucosa en la sudoración de la persona, convirtiendo luego este valor en su equivalente de concentración de glucosa en sangre.

V. CONCLUSIONES

Dentro del área de la ingeniería biomédica, hemos hecho un recorrido por los distintos tipos de biosensores de glucosa. Cabe resaltar la importancia de éstos dispositivos en el tratamiento y el control de una enfermedad tan común como es la diabetes, siendo posible hasta la implantación de uno de estos mini dispositivos (Fig. 11) [12]. No siendo menor el hecho de que hoy en día los dispositivos de monitoreo de la glucosa son de uso sencillo, prácticos y cada vez menos invasivos.

No quería dejar de resaltar las tan diversas aplicaciones que tienen los biosensores en la actualidad:

- Diagnósticos clínicos y biomedicina.
- Microbiología: análisis bacterianos y virales.

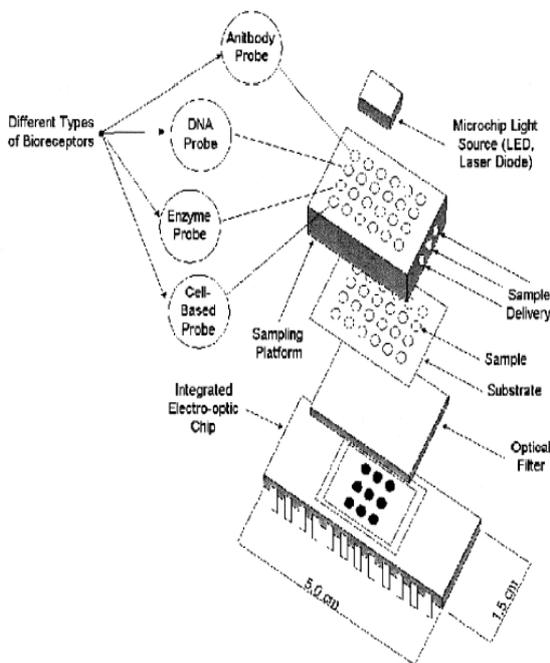


Fig. 11. Diagrama de un biosensor adaptado de una presentación de ORNL (<http://www.ornl.gov/virtual/biomedicalsensors>).

- Procesos de control: control en la fermentación, análisis en la industria alimenticia.
- Análisis en la industria farmacéutica.
- Control ambiental: monitoreo de la polución, monitoreo de gases tóxicos.
- Aplicaciones militares.

REFERENCIAS

- [1] http://www.drexel.edu/academics/coe/ce/web_books/EngBio/Hidden/sensr/tocsenf.HTM
- [2] <http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/amperometric.html>
- [3] Gerard L.Coté, Ryszard M.Lec, Michael V.Pishko, "Emerging Biomedical Sensing Technologies and Their Applications", IEEE SENSORS JOURNAL, VOL 3, NO. 3, JUNE 2003
- [4] Empresa de Productos Biológicos 'Carlos J.Finlay'.
- [5] Yuria Bilbao Abraham, Liliam Valdes Dias y YasminT. Bianco Lopez. "Inmovilización Covalente de Glucosa Oxidasa y Peroxidasa", Rev. Cubana Farm 2000;34(2):108-12

- [6] B. Alfaro Redondo y B. Perez Villareal. "Biosensores en la industria alimentaria"
- [7] <http://www.medicalhomeproducts.com/>
- [8] Laboratorios Lifescan, <http://www.lifescan.com/>
- [9] Laboratorios Ancon, <http://www.anconlabs.com/>
- [10] Yellow Springs Industries, <http://www.ysi.com/>
- [11] Asociación de Diabéticos del Uruguay.
- [12] Oak Ridge National Lab (ORNL), <http://www.ornl.gov/virtual/biomedicalsensors/>
- [13] minimed continuous glucose monitoring system; http://www.minimed.com/files/cgms/patient_pg2.htm
- [14] Laboratorios Roche, <http://www.Roche.com/>