



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ
ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΣΕΡΟΤΟΝΙΝΗΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Εμμανουήλ Δ. Χρονάκης

Επιβλέπων Καθηγητής:

Ευάγγελος Β. Χριστοφόρου

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Νοέμβριος 2021



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ

ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ
ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΣΕΡΟΤΟΝΙΝΗΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Εμμανουήλ Δ. Χρονάκης

Επιβλέπων Καθηγητής:

Ευάγγελος Β. Χριστοφόρου

Καθηγητής Ε.Μ.Π.

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή τη 10^η Νοεμβρίου 2021.

.....
Ευάγγελος Χριστοφόρου
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

.....
Γεώργιος Ματσόπουλος
Καθηγητής Ε.Μ.Π.

.....
Παναγιώτης Τσαραμπάρης
Επ. Καθηγητής Ε.Μ.Π.

.....
Εμμανουήλ Δ. Χρονάκης

Διπλωματούχος Ηλεκτρολόγος Μηχανικός και Μηχανικός Υπολογιστών Ε.Μ.Π.

Copyright © Εμμανουήλ Δ. Χρονάκης

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ' ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Περίληψη

Οι ψυχιατρικές ασθένειες εμφανίζουν αυξανόμενο επιπολασμό ανάμεσα σε ανθρώπους σε όλη την υφήλιο. Η βαθύτερη κατανόηση των νευροδιαβιβαστών δηλαδή των χημικών ουσιών που ρυθμίζουν την εγκεφαλική δραστηριότητα απαιτείται για την ανάπτυξη πιο αποδοτικών θεραπειών ικανών να καταστείλουν μια πληθώρα τέτοιων νοσημάτων καθώς και για να εξαχθεί η αιτιότητα μεταξύ της συγκέντρωσης των νευροδιαβιβαστών και άλλων ιατρικών παθήσεων ή φαινομένων. Ένας από τους νευροδιαβιβαστές, η σεροτονίνη, η οποία είναι γνωστή και ως η ορμόνη της χαράς, είναι φαινομενικά υπεύθυνη για ένα μεγάλο εύρος λειτουργιών στους βιολογικούς οργανισμούς. Η ερευνητική κοινότητα επιδεικνύει αυξανόμενο ενδιαφέρον για τον καθορισμό της ακριβής επίδρασης της σεροτονίνης. Σε αυτήν την κατεύθυνση, χρειάζεται να επιστρατευτούν αποδοτικά και οικονομικά συστήματα για την μέτρηση της σεροτονίνης. Στη παρούσα διπλωματική παρατίθεται μια συγκριτική έρευνα της υπάρχουσας βιβλιογραφίας για τις λειτουργίες των σεροτονινεργικών συστημάτων στον οργανισμό. Έπειτα, αναλύονται τα είδη βιοαισθητήρων, οι μηχανισμοί παγίδευσης των βιομορίων, τα υλικά που χρησιμοποιούνται στις διατάξεις και οι τεχνικές των μετρήσεων στους βιοαισθητήρες. Τέλος, αναπτύσσεται ένας νέος χωρητικός βιοαισθητήρας βασιζόμενος στη τεχνολογία των GPCR βιοαισθητήρων για την μέτρηση της εναποτιθέμενης σεροτονίνης πάνω στην επιφάνεια ενός interdigitated πυκνωτή.

Λέξεις-κλειδιά: *Ψυχιατρικές ασθένειες, σεροτονίνη, νευροδιαβιβαστής, βιοαισθητήρας, interdigitated αισθητήρας, χωρητικός βιοαισθητήρας*

Abstract

Psychiatric disorders exhibit an increasing prevalence among individuals across the world. A deeper understanding of neurotransmitters, the chemical substances that regulate encephalic activity is required in order to develop more effective treatments to combat the plethora of these diseases as well as extract the causality between neurotransmitter concentration and various other health aspects. One of these neurotransmitters, serotonin, also called the happy molecule, is seemingly responsible for a wide range of functions of the biological organisms. A growing interest in the research community to determine the extent of serotonin's exact influence is becoming evident. In this direction, efficient and inexpensive systems should be employed for the measurements of serotonin. In this diploma thesis, a comparative study of the existing literature on the topic of the effects of serotonergic systems in organisms is detailed. Furthermore, biosensor types, bioreceptor mechanisms, materials and measurements used in biosensors are being discussed. Finally, a novel GPCR-based capacitive biosensor to measure the concentration of serotonin deposited on the sensor's interdigitated capacitor surface was developed.

Keywords: *mental disorders, serotonin, neurotransmitter, biosensor, interdigitated sensor, capacitive biosensor*

Πρόλογος – Ευχαριστίες

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικών Αισθητήρων της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών κατά το Ακαδημαϊκό έτος 2020-2021. Επιβλέπων της διπλωματικής εργασίας ήταν ο καθηγητής κ. Ευάγγελος Χριστοφόρου, τον οποίο ευχαριστώ εγκαρδίως, αφενός για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την αποδοχή του αιτήματός μου να ασχοληθώ με ένα βιοαισθητήρα με ιατρικές εφαρμογές, και αφετέρου για τις κατευθυντήριες γραμμές που μου έδινε καθ' όλη τη διάρκεια της συγγραφής της εργασίας.

Ευχαριστώ επίσης τους καθηγητές κ. Γ. Ματσόπουλο και κ. Π. Τσαραμπάρη για τη συμμετοχή τους στην επιτροπή εξέταση της παρούσας διπλωματικής και για τις εύστοχες παρατηρήσεις τους ως προς το περιεχόμενό της.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα Αντώνη Γεωργά για την καίρια καθοδήγησή του, ιδιαίτερα στα κρίσιμότερα στάδια της ολοκλήρωσης της εργασίας, και τον Dr. Angelo Ferraro για την καθοριστική συμβολή του στην επιλογή των ligands.

Οφείλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όλους τους ανθρώπους που με πλαισίωσαν στην φοιτητική μου σταδιοδρομία. Ευχαριστώ την οικογένειά μου για τη συνεχή στήριξη αυτά τα χρόνια, τους αγαπημένους φίλους μου που επένδυσαν την φοιτητική περίοδο με αξέχαστες εμπειρίες, καθώς και τους συμφοιτητές μου με τους οποίους μοιραστήκαμε τα πάθη της γνωσιακής αναζήτησης και ειδικά τον Βαγγέλη Κ. για την αμέριστη συμπαράστασή του.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ την μητέρα μου και την αδερφή μου που ανεχόντουσαν την άτακτη παρουσία γραφικής ύλης και βιβλίων στο σπίτι όλα αυτά τα χρόνια και την σύντροφό μου Έλενα.

Πίνακας Περιεχομένων

Περίληψη.....	iii
Abstract	v
Πρόλογος – Ευχαριστίες.....	vii
Πίνακας Περιεχομένων	ix
Ευρετήριο Σχημάτων.....	xiii
Ευρετήριο Πινάκων	xv
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....	1
Εισαγωγή	1
Αντικείμενο της διπλωματικής εργασίας.....	1
Στόχος της εργασίας	1
Δομή της εργασίας.....	2
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2.....	3
Σεροτονίνη.....	3
2.1 Δομή και σύνθεση της σεροτονίνης	3
2.2 Ο ρόλος τη σεροτονίνης στον ανθρώπινο οργανισμό.....	5
2.2.1 Καρδιαγγειακό σύστημα.....	7
2.2.2 Αναπνευστικό σύστημα	8
2.2.3 Ενδοκρινικό σύστημα	8
2.2.4. Γαστρεντερικό σύστημα	8
2.2.5 Ουροποιητικό σύστημα	9
2.2.6 Αναπαραγωγικό σύστημα.....	9
2.2.7 Άλλες λειτουργίες.....	9
2.3 Ψυχιατρικές και νευρολογικές παθήσεις.....	10
2.3.1 Κατάθλιψη	10
2.3.2 Σχιζοφρένεια	11
2.3.3 Νόσος Alzheimer	12
2.3.4 Νόσος Parkinson.....	13
2.3.5 Ντελίριο	13
2.4 Καρκινοειδείς όγκοι, καρκινοειδές σύνδρομο και σεροτονίνη	14

2.5 Υποδοχείς σεροτονίνης	14
2.5.1 Υποδοχείς 5-HT ₁	16
2.5.1.1 Υποδοχείς 5-HT _{1A}	16
2.5.1.2 Υποδοχείς 5-HT _{1B}	17
2.5.1.3 Υποδοχείς 5-HT _{1D}	17
2.5.2 Υποδοχείς 5-HT ₂	18
2.5.2.1 Υποδοχείς 5-HT _{2A}	18
2.5.2.2 Υποδοχείς 5-HT _{2B} και 5-HT _{2C}	18
2.5.3 Υπόλοιποι υποδοχείς.....	19
2.5.3.1 Υποδοχείς 5-HT ₃	19
2.5.3.2 Υποδοχείς 5-HT ₄	19
2.5.3.3 Υποδοχείς 5-HT ₅ και 5-HT ₆	19
2.5.3.4 5-HT ₇	19
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....	21
Βιοαισθητήρες.....	21
3.1 Γενικά στοιχεία για τους βιοαισθητήρες και τους βιοϋποδοχείς	21
3.2 Κατηγορίες βιοαισθητήρων με βάση τους βιοϋποδοχείς	23
3.2.1 Ενζυμικοί βιοϋποδοχείς και βιοαισθητήρες.....	23
3.2.2. Βιοαισθητήρες και βιοϋποδοχείς αντισώματος-αντιγόνου	25
3.2.3 Βιοϋποδοχείς νουκλεϊκού οξέος και αισθητήρες γονιδίων, RNA, DNA (genosensors).....	27
3.3.4 Βιοϋποδοχείς κυττάρων και μικροβιακοί αισθητήρες.....	28
3.2.5 Τεχνητοί δέκτες- Βιομμητές- MIPs	29
3.2.6 Αισθητήρες βασισμένοι σε απταμερή.....	30
3.2.7 Πεπτιδικοί βιοαισθητήρες	31
3.2.8 Βιοαισθητήρες βασισμένοι σε GPCR.....	32
3.3 Μοριακή αναγνώριση	36
3.4 Ακινητοποίηση βιομορίων	37
3.4.1 Τεχνικές ακινητοποίησης.....	38

3.5 Υποστρώματα	41
3.6 Επικαλύψεις.....	42
3.7 Interdigitated πυκνωτής.....	42
3.7.1 Αναλυτικά μοντέλα υπολογισμού της χωρητικότητας στους interdigitated πυκνωτές.....	45
3.7.2 Πλεονεκτήματα χρήσης interdigitated πυκνωτών	51
3.8 Τεχνικές μέτρησης.....	51
3.8.1 Αμπερομετρία	51
3.8.2 Βολταμμετρία.....	52
3.8.2.1 Κυκλική βολταμμετρία.....	52
3.8.2.2 Άλλες τεχνικές βολταμμετρίας.....	56
3.8.3 Αγωγιμομετρία.....	58
3.8.4 Ποτενσιομετρία.....	58
3.8.5 Εμπεδισιομετρία	59
3.9 Υπάρχοντα συστήματα μέτρησης της σεροτονίνης.....	61
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4.....	63
Πειραματικό μέρος	63
4.1 Κατασκευή της αισθητήριας διάταξης.....	64
4.2 Αποτελέσματα	66
4.2.1 Χωρητικότητα συναρτήσει του χρόνου για διάλυμα μικρής περιεκτικότητας σεροτονίνης	66
4.2.2 Χωρητικότητα με αύξηση περιεκτικότητας διαλύματος.....	68
4.3 Πλεονεκτήματα και πιθανές βελτιώσεις της διάταξης.....	72
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5.....	77
Μελλοντικές Εργασίες και σχόλια.....	77
Επίλογος	79
Βιβλιογραφία	81

Ευρετήριο Σχημάτων

Εικόνα 1. Η κρυσταλλική δομή της σεροτονίνης.	3
Εικόνα 2. Η σύνθεση και ο μεταβολισμός της σεροτονίνης.	4
Εικόνα 3. Ο επιπολασμός των ψυχιατρικών ασθενειών στις Η.Π.Α. το 2019.	6
Εικόνα 4. Ο μηχανισμός δράσης των SSRI.	7
Εικόνα 5. Πιθανές ερμηνείες παθολογικών τιμών.	10
Εικόνα 6. Κατηγοριοποίηση των υποδοχέων της 5-HT.	15
Εικόνα 7. Η δομή διάφορων υποδοχέων σεροτονίνης.	16
Εικόνα 8. Αρχή λειτουργίας μιας συσκευής βιοαισθητήρα.	22
Εικόνα 9. Κατηγοριοποίηση βιοαισθητήρων ανάλογα τον βιοϋποδοχέα και τον μετατροπέα.	23
Εικόνα 10. Σχηματικό διάγραμμα ανοσοαισθητήρα.	25
Εικόνα 11. Επιφάνεια ανίχνευσης βιοαισθητήρα.	27
Εικόνα 12. Βασική αρχή λειτουργίας υβριδισμού DNA.	28
Εικόνα 13. Διαδικασία σύνθεσης MIP.	30
Εικόνα 14. Αισθητήρας βασισμένος σε απταμερή για την ανίχνευση ντοπαμίνης.	31
Εικόνα 15. Κύκλος ενεργοποίησης/απενεργοποίησης της GPCR-G πρωτεΐνης .	34
Εικόνα 16. Αλλαγή στα φυσικά χαρακτηριστικά μετά την μοριακή σύνδεση. ...	37
Εικόνα 17. Ακίνητοποίηση ενζύμων με μικροενθυλάκωση.	40
Εικόνα 18. Μέθοδοι ακίνητοποίησης βιομορίων στους βιοαισθητήρες. (α) προσρόφηση (β) παγίδευση (γ) ομοιοπολική δέσμευση (δ) εγκλωβισμό (ε) διαμοριακή σύνδεση (στ) δημιουργία SAMs.	41
Εικόνα 19. Εμπορική κατασκευή interdigitated πυκνωτή.	43
Εικόνα 20. Ηλεκτρικές γραμμές από τον κοινό πυκνωτή στον interdigitated. ...	44
Εικόνα 21. Σχηματική αναπαράσταση interdigitated πυκνωτή.	45
Εικόνα 22. Σχηματική αναπαράστασή του πρώτου αναλυτικού μοντέλου.	46
Εικόνα 23. (α) Μοντέλο χαμηλών συχνοτήτων (b) Μοντέλο υψηλών συχνοτήτων.	48
Εικόνα 24. Σχηματική αναπαράσταση του ηλεκτροχημικού κελιού.	53

Εικόνα 25. Χαρακτηριστική ρεύματος-δυναμικού για την κυκλική βολταμμετρία.	55
Εικόνα 26. Βολταμμετρία τετραγωνικού παλμού (SWV).....	58
Εικόνα 27. Ισοδύναμο κύκλωμα Randles για την διάταξη τριών ηλεκτροδίων σε ιοντικό διάλυμα.	59
Εικόνα 28. Διάγραμμα Nyquist για την παραπάνω διάταξη.....	60
Εικόνα 29. Σχηματικό διάγραμμα οξείδωσης της σεροτονίνης στο αιμοπετάλιο και η δημιουργία ρεύματος κορυφής ως αποτέλεσμα.	62
Εικόνα 30. Ο interdigitated πυκνωτής.	64
Εικόνα 31. Βάση στήριξης.....	65
Εικόνα 32. Ο μετρητής LCR.	65
Εικόνα 33. Διάγραμμα χωρητικότητας συναρτήσει του χρόνου μετά την προσθήκη διαλύματος σεροτονίνης 100 ng/ mL	67
Εικόνα 34. Διάγραμμα χωρητικότητας συναρτήσει των τιμών περιεκτικότητας σεροτονίνης στο διάλυμα.....	69
Εικόνα 35. Calibration Curve.....	69
Εικόνα 36. Απλοποιημένο εμφυτεύσιμο σύστημα επιτήρησης τιμών διάφορων νευροδιαβιβαστών σε πραγματικό χρόνο	78

Ευρετήριο Πινάκων

Πίνακας 1. Τιμές χωρητικότητας μετά την προσθήκη διαλύματος σεροτονίνης περιεκτικότητας 100ng/mL ανά 5 sec.....	67
Πίνακας 2. Τιμές χωρητικότητας μετά την προσθήκη διαλυμάτων μεγαλύτερης περιεκτικότητας σεροτονίνης.....	68
Πίνακας 3. Πίνακας αποτελεσμάτων για διάφορους αισθητήρες σεροτονίνης.	71

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Εισαγωγή

Αντικείμενο της διπλωματικής εργασίας

Οι ψυχιατρικές ή ψυχικές νόσοι είναι παθήσεις που αναφέρονται στη συμπεριφορική λειτουργία των οργανισμών, ενώ κατά κύριο λόγο δεν εκδηλώνονται μέσω σωματικών συμπτωμάτων. Αυτή η ιδιομορφία των ψυχιατρικών παθήσεων καθιστά την διάγνωσή τους εξαιρετικά δύσκολη καθώς και την κατηγοριοποίησή τους να εκπίπτει σε ασαφή όρια. Κοινές ψυχικές νόσοι που απασχολούν τους ανθρώπους είναι η κατάθλιψη, η σχιζοφρένεια, η άνοια και το διπολικό σύνδρομο. Υπολογίζεται ότι περίπου το 10% του παγκόσμιου πληθυσμού έχει διαγνωστεί με κάποιες από τις παραπάνω ή άλλες ψυχικές παθήσεις [1].

Παράλληλα οι λειτουργίες των διαφόρων νευροδιαβιβαστών αποτελούν ένα πεδίο έρευνας συνεχώς εξελισσόμενο αλλά ταυτόχρονα διφορούμενο λόγω της μεγάλης πολυπλοκότητας των εγκεφαλικών λειτουργιών. Ανάμεσα σε αυτές τις ουσίες που ρυθμίζουν τις εγκεφαλικές λειτουργίες, δηλαδή τους νευροδιαβιβαστές συγκαταλέγεται και η σεροτονίνη. Η σεροτονίνη συχνά αποκαλείται η ορμόνη της χαράς, χαρακτηρισμός που οφείλεται στη γενική παραδοχή της αιτιότητας μεταξύ της συγκέντρωσής της στον οργανισμό και της καλής διάθεσης.

Στόχος της εργασίας

Στόχος της παρούσας εργασίας είναι αρχικά να αποσαφηνιστεί κατά το μέγιστο ικανό βαθμό που δύναται με τα έως τώρα εξαγόμενα δεδομένα που προέρχονται από τη βιβλιογραφία, η αιτιότητα των ψυχικών νόσων και άλλων εγκεφαλικών ή/και σωματικών λειτουργιών με τις συγκεντρώσεις της σεροτονίνης και των βιοϋποδοχέων της. Σε ένα δεύτερο στάδιο φιλοδοξείται η ανάλυση των σύγχρονων τεχνικών ανάπτυξης βιοαισθητήρων με έμφαση στον διαχωρισμό των τεχνικών ανάλογα με την επιλογή προσδέματος ή ligand και ανάλογα με την επιλογή τεχνικής μέτρησης, ενώ αναλύεται η λειτουργία και τα πλεονεκτήματα των πυκνωτών

ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων ή interdigitated. Τελικά και έπειτα από την επιλογή ανάμεσα στις προηγουμένως αναφερόμενες τεχνικές και στα διάφορα υλικά και ligands αναπτύσσεται μια αισθητήρια διάταξη η οποία θα ανιχνεύει την αλλαγή της συγκέντρωσης της σεροτονίνης.

Δομή της εργασίας

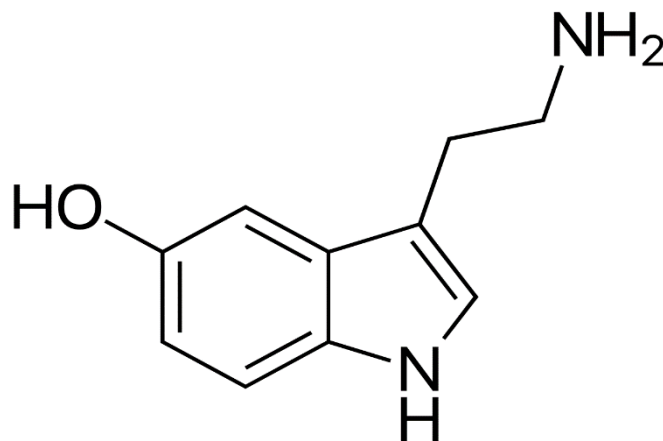
Η εργασία διαρθρώνεται αρχικά σε τέσσερα μέρη. Το πρώτο μέρος αναφέρεται γενικότερα στη σεροτονίνη και τα αντίστοιχα σεροτονινεργικά συστήματα, το δεύτερο στις τεχνικές των βιοαισθητήρων, το τρίτο στο πειραματικό μέρος και το τέταρτο στις μελλοντικές έρευνες για τη μέτρηση της σεροτονίνης. Το πρώτο μέρος αποτελείται με τη σειρά του από δύο μέρη, όπου το πρώτο αναφέρεται στη σεροτονίνη, τη δομή και τη σύνθεσή της και κυρίως αναλύεται η πιθανολογούμενη επίδραση της σεροτονίνης στα φυσιολογικά συστήματα των οργανισμών, με έμφαση τον ανθρώπινο, και τις ψυχικές νόσους, ενώ στο δεύτερο σκέλος η εργασία εξειδικεύεται στην επίδραση των διαφόρων φυσικών υποδοχέων της σεροτονίνης, οι οποίοι λειτουργούν και σαν ligand ή πρόσδεμα για την ανάπτυξη αισθητήριων διατάξεων για μέτρηση της σεροτονίνης. Στο δεύτερο μέρος, παρουσιάζονται τα διάφορα είδη βιοαισθητήρων, οι τεχνικές ακινητοποίησης πάνω στην επιφάνεια των αισθητήρων, γίνεται λόγος για την τεχνολογία των interdigitated (ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων) πυκνωτών και παρατίθενται κάποια υπάρχοντα συστήματα μέτρησης της σεροτονίνης. Στο τρίτο μέρος αναλύεται η διαδικασία ανάπτυξης του βιοαισθητήρα και επισυνάπτονται και σχολιάζονται τα προκύπτοντα αποτελέσματα, ενώ αναπτύσσονται τα πλεονεκτήματα της εργασίας. Στο τελευταίο μέρος, δίνονται κατευθύνσεις για μελλοντικές έρευνες και τάσεις στο ερευνητικό πεδίο της μέτρησης της σεροτονίνης ή/και άλλων νευροδιαβιβαστών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Σεροτονίνη

2.1 Δομή και σύνθεση της σεροτονίνης

Η σεροτονίνη ή υδροξυτρυπταμίνη (5-hydroxytryptamine, 5-HT) είναι αρωματική οργανική ένωση η οποία δρα ως νευροδιαβιβαστής του εγκεφάλου. Αυτό σημαίνει πως η σεροτονίνη είναι ουσία που έχει τον ρόλο μεταβίβασης πληροφοριών μεταξύ των νευρώνων. Η βιολογική λειτουργία της χαρακτηρίζεται από μεγάλη πολυπλοκότητα καθώς είναι μερικώς υπεύθυνη για την ρύθμιση πολυάριθμων διανοητικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της διάθεσης, της μνήμης, της γνωστικής λειτουργίας, του συστήματος επιβράβευσης κ.α. Παράλληλα χρησιμεύει ως αγγειοδιασταλτικός παράγοντας και εξασφαλίζει την καρδιαγγειακή ακεραιότητα. Διαταραχές στα επίπεδα της σεροτονίνης στον ανθρώπινο οργανισμό ενδέχεται να οδηγήσουν σε παρεκτροπή από την φυσιολογική λειτουργία του εγκεφάλου με εκδηλώσεις ψυχιατρικών νοσημάτων όπως η σχιζοφρένεια και η κατάθλιψη σε περιπτώσεις κατ' εξαίρεσης συσσώρευσης ή ελλείματος αντίστοιχα [2-5].

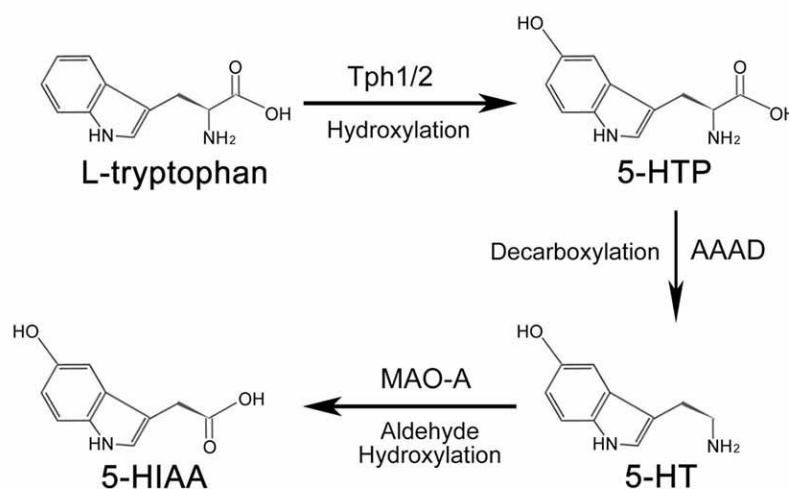


Εικόνα 1. Η κρυσταλλική δομή της σεροτονίνης [6].

Η σεροτονίνη είναι παράγωγο του αμινοξέους L-τρυπτοφάνη που συναποτελεί τα εννέα απαραίτητα για την δόμηση των πρωτεϊνών αμινοξέα.

Η L-τρυπτοφάνη δεν βρίσκεται εγγενώς στο ανθρώπινο σώμα και συνεπώς απαιτείται η πρόσληψή της μέσω της τροφής. Ως απόρροια αυτού, η δομή της σεροτονίνης ακολουθεί στενά αυτή ενός αμινοξέους. Συγκεκριμένα, η τρυπτοφάνη αποτελείται από ένα κεντρικό άτομο άνθρακα συνδεδεμένο με μία αμινομάδα, μία καρβοξυλική ομάδα, ένα άτομο υδρογόνου και ενός συνδυασμού μεθυλομάδας και δακτύλιου ινδολίου. Ο δακτύλιος ινδολίου είναι δικυκλική δομή που συντίθεται από έναν εξαμελή δακτύλιο βενζολίου (6 άτομα άνθρακα) συντηγμένο με έναν πενταμελή δακτύλιο πυρρολίου (4 άτομα άνθρακα και 1 άτομο αζώτου). Μέσω της διαδικασίας της υδροξυλίωσης, δηλαδή της προσθήκης μίας ομάδας υδροξέους στην 5η θέση της τρυπτοφάνης, ακολουθούμενης από την αποκαρβοξυλίωση, δηλαδή την απομάκρυνση της καρβοξυλικής ομάδας, λαμβάνεται η τελική δομή, δηλαδή αυτή του 5-υδροξυ-αμινοαιθυλο-ινδολίου, γνωστό και ως 5-υδροξυτρυπταμίνη. Η κρυσταλλική δομή και η μεταβολική διαδικασία της σεροτονίνης εμφανίζονται στην εικόνα 1 και 2 αντίστοιχα.

Το 5-υδροξυινδολοξικό οξύ (5-HIAA) αποτελεί τον κύριο μεταβολίτη της σεροτονίνης. Προκύπτει με την συμμετοχή του ενζύμου μονοαμινοξειδάση (MAO) και της αλδεϊδικής δεϋδρογονάσης [7]. Το 5-HIAA απεκκρίνεται στα ούρα μαζί με την 5-HT και με την ανάλυση της συγκέντρωσής του στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό γίνεται να αποφανθεί κάποιος για τα επίπεδα της σεροτονίνης στον οργανισμό [8].



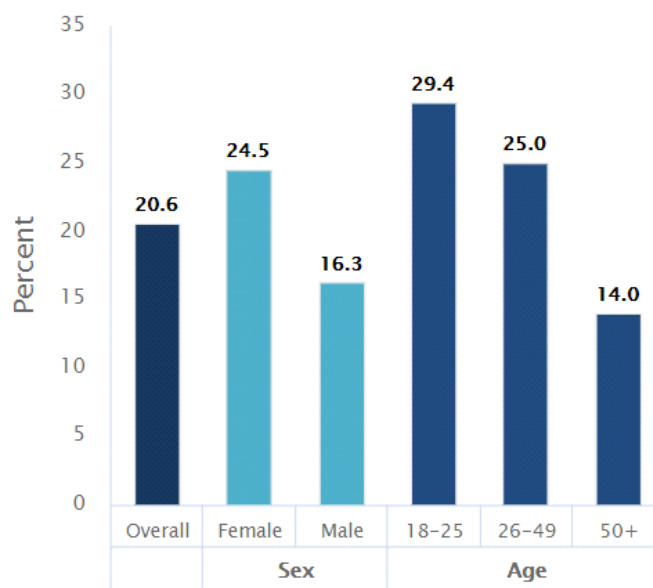
Εικόνα 2. Η σύνθεση και ο μεταβολισμός της σεροτονίνης [7].

Η σεροτονίνη ως νευροδιαβιβαστής κατανέμεται σε διάφορα σημεία στον ανθρώπινο οργανισμό. Παρότι η λειτουργία της είναι στενά συνδεδεμένη με εγκεφαλικές λειτουργίες, το μεγαλύτερο ποσοστό, περίπου 95%, εκκρίνεται από τα εντεροχρωμαφινικά κύτταρα του γαστρο-εντερικού συστήματος - στα οποία απομονώθηκε και περιεγράφηκε για πρώτη φορά το 1930 - για τη ρύθμιση της εντερικής κινητικότητας. Μόνο ένα μικρό ποσοστό (5%) συντίθεται από τους σεροτονινεργικούς νευρώνες που βρίσκονται στον εγκέφαλο, ενώ μόνο το 1-2% τελικά καταλήγει και δραστηριοποιείται στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ). Η βαρύνουσα σημασία της σεροτονίνης για το ΚΝΣ και συνεπώς όλων των εγκεφαλικών λειτουργιών εξηγείται ως εξής: Ένα ποσοστό 8% του παραγόμενου βρίσκεται στα αιμοπετάλια, γεγονός που εξηγεί την ανοσοθρομβωτική επίδρασή της και τα γενικευμένα αποτελέσματα της συγκέντρωσής της για την φυσιολογική λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού [2,7]

2.2 Ο ρόλος τη σεροτονίνης στον ανθρώπινο οργανισμό

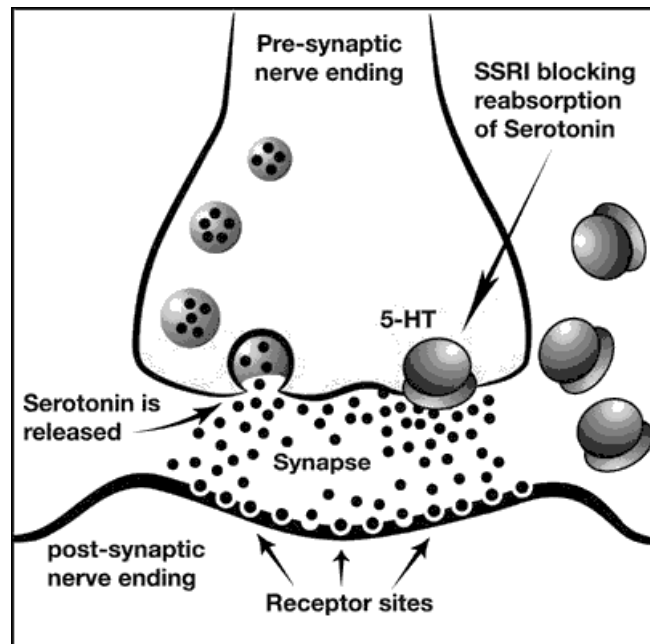
Σε αυτό το σημείο είναι σημαντικό να διερευνηθεί πιο διεξοδικά ο ρόλος τον οποίο διαδραματίζει η σεροτονίνη στον οργανισμό με σκοπό να γίνει απολύτως κατανοητό γιατί η σεροτονίνη είναι καθοριστικής σημασίας ουσία για την εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού και συγκεντρώνει το ενδιαφέρον σύσσωμης της επιστημονικής κοινότητας. Πρέπει να καταστεί σαφές για ποιο λόγο γίνεται επιτακτική η ανάγκη μέτρησης της σεροτονίνης όπως και διάφορων άλλων νευροδιαβιβαστών και ορμονών όπως η ντοπαμίνη, η ωκυτοκίνη και οι ενδορφίνες, ιδιαίτερα λόγω της λειτουργίας τους ως συμπεριφορικοί και ψυχολογικοί παράγοντες σε ένα κοινωνικοπολιτικό πλαίσιο που η ψυχική υγεία βρίσκεται υπό το φως του προβολέα [9,10]. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οφειλόμενης της σχετικά πρόσφατης ανακάλυψης των παραπάνω, δεν έχει καθοριστεί πλήρως η ακριβής συσχέτιση των τιμών τους με τις αποδιδόμενες σε αυτές λειτουργίες καθώς η έρευνα γύρω από τις διάφορες αιτιότητες βρίσκεται εν εξελίξει ή σε πρώιμο στάδιο με αποτέλεσμα την αδυναμία οποιουδήποτε απόλυτου καταληκτικού πορίσματος.

Past Year Prevalence of Any Mental Illness Among U.S. Adults (2019)



Εικόνα 3. Ο επιπολασμός των ψυχιατρικών ασθενειών στις Η.Π.Α. το 2019 [11].

Σαν πειστήριο της αδυναμίας της σύγχρονης επιστήμης να τιθασεύσει κατά κάποιο τρόπο τις δυνατότητες που προκύπτουν από την πολυεπίπεδη φύση της σεροτονίνης, αναφέρονται τα φάρμακα SSRI-EAEΣ (Εκλεκτικοί Αναστολείς Επαναπρόσληψης Σεροτονίνης) σαν φάρμακα κατά των αυξανόμενων κρουσμάτων ψυχιατρικών νόσων (Εικόνα 3) . Ο στόχος τους είναι να αυξήσουν τα επίπεδα σεροτονίνης που θα απορροφηθούν περιορίζοντας την επαναπρόσληψη της στο προσιναπτικό κύτταρο και συνεπώς αυξάνοντας το εξωκυτταρικό επίπεδο της (Εικόνα 4) .Αν και τα SSRI είναι τα πιο συνταγογραφημένα αντικαταθλιπτικά σε πολλές χώρες, η αποδοτικότητά τους έχει αποτελέσει το έναυσμα για πολλές διαφωνίες ανάμεσα στους ειδικούς γιατρούς και φαρμακολόγους [12]. Ενδεικτικά, αναφέρεται το σεροτονινεργικό σύνδρομο, μια πάθηση που οφείλεται αποκλειστικά στην χρήση των SSRI [13,14] (Εικόνα 5).



Εικόνα 4. Ο μηχανισμός δράσης των SSRI [15].

Αρχικά επισημαίνονται οι λειτουργίες που προσδιορίζονται εκτός του ΚΝΣ.

2.2.1 Καρδιαγγειακό σύστημα

Η σεροτονίνη είναι υπεύθυνη για την αγγειακή αντίσταση, μέγεθος που υποδηλώνει ποια τιμή απαιτείται να ξεπεραστεί για να εξωθηθεί το αίμα στο κυκλοφορικό σύστημα, την αρτηριακή πίεση, την αιμόσταση και την γενικότερη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, προκαλεί αγγειοσυστολή ή αγγειοδιαστολή ανάλογα με τον τύπο του υποδοχέα 5-HT που ευδοκιμεί στην περιοχή του αγγείου. Επί παραδείγματι, στα εγκεφαλικά αιμοφόρα αγγεία, ο υποδοχέας 5-HT_{1B} προκαλεί διαστολή. Στα αιμοπετάλια, η σεροτονίνη απαντάται σε κυστικές αποθήκες αλλά λόγω της απουσίας ενζύμων δεν μπορούν να συνθέσουν τα ίδια σεροτονίνη.

Όσον αφορά την καρδιακή λειτουργία, η σεροτονίνη ρυθμίζει την ηλεκτρική αγωγιμότητά της και το κλείσιμο της βαλβίδας. Υψηλά επίπεδα σεροτονίνης σε συνδυασμό με κατεχολαμίνες έχουν συνδεθεί με την ύπαρξη κολπικής μαρμαρυγής σε ασθενείς [2,7,16]

2.2.2 Αναπνευστικό σύστημα

Η λειτουργία της σεροτονίνης στο αναπνευστικό συνίσταται στον έλεγχο της αγγείωσής του και της αναπνοής. Σε περιπτώσεις αρτηριακής υπέρτασης, παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα σεροτονίνης. Επιπλέον, η 5-HT ρυθμίζει την δραστηριότητα ειδικών νευρώνων υπεύθυνων για την παραγωγή του ρυθμού της αναπνοής μέσω του υποδοχέα 5-HT₄. Διαταραχές στην σεροτονίνη έχουν βρεθεί και στα μισά περιστατικά συνδρόμου του αιφνίδιου θανάτου των βρεφών, την πιο συχνή αιτία θανάτου για βρέφη νεαρότερα των 12 μηνών σε ποσοστό 0.39 ανά 1000 γεννήσεις [17,18,19].

2.2.3 Ενδοκρινικό σύστημα

Κάποιοι ενδοκρινείς αδένες, όπως ο υποθάλαμος και η υπόφυση, απαντώνται στον εγκέφαλο. Η 5-HT διαχειρίζεται το σύστημα του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-επινεφριδίων (ΥΥΕ) το οποίο ρυθμίζει πολλαπλά ομοιοστατικά συστήματα στον οργανισμό όπως το καρδιαγγειακό, το ανοσοποιητικό και το αναπαραγωγικό. Ο υποθάλαμος εκκρίνει την κορτικοεκλυτίνη σαν απόκριση σε άγχος, αρρώστιες ή αυξημένα επίπεδα κορτιζόλης αλλά και ανάλογα με τον κιρκάδιο ρυθμό. Σαν αποτέλεσμα, με τον άξονα ΥΥΕ και πιο συγκεκριμένα μέσω του υποδοχέα 5-HT_{2C} επιτυγχάνεται η διανομή της ενέργειας και της γλυκόζης. Επιπλέον, η σεροτονίνη έχει βρεθεί πως εμπλέκεται στην ανάπτυξη και την ανάπλαση των οργάνων του μεταβολισμού και του ενδοκρινικού όπως το ήπαρ (μέσω των υποδοχέων 5-HT_{2A} και 5-HT_{2B}) και ο μαστικός αδένας [2].

2.2.4 Γαστρεντερικό σύστημα

Όπως έχει αναφερθεί, το 95% της σεροτονίνης βρίσκεται στον γαστρεντερικό σωλήνα. Συνεπώς, δεν αποτελεί έκπληξη πως η σεροτονίνη επιθεωρεί ένα μεγάλο μέρος των διεργασιών που συντελούνται στο γαστρεντερικό σύστημα. Μέσω των διάφορων υποδοχέων, μπορεί να ενεργοποιηθεί η ναυτία, ο εμετός και η περίσταση ενώ διατηρείται η φυσιολογία και οι συσπάσεις του εντέρου. Έρευνες έχουν καταδείξει σημαντική συνάφεια μεταξύ επιπέδων σεροτονίνης και γαστρεντερικών διαταραχών όπως η χρόνια δυσκοιλιότητα, η διάρροια και η δυσπεψία. Σημαντικότερη όμως επίδραση φαίνεται να έχει στο σύνδρομο ευερέθιστου εντέρου

όπου φάρμακα για την αντιμετώπισή του έχουν στο στόχαστρο τις ομάδες υποδοχέων 5-HT₃ και 5-HT₄. Τέλος, όσον αφορά τις λοιμώξεις του γαστρεντερικού, η σεροτονίνη φαίνεται να επηρεάζει την λοιμογόνο δράση των παθογόνων βακτηρίων όπως αυτό της *Escherichia Coli* [20,21].

2.2.5 Ουροποιητικό σύστημα

Η σεροτονίνη ελέγχει την ούρηση μέσω παρασυμπαθητικών νευρικών ώσεων στην ουροδόχο κύστη και στον σφιγκτήρα της ουρήθρας. Οι υποδοχείς 5-HT_{2C} αποτρέπουν την ούρηση ενώ οι υποδοχείς 5-HT_{1A} την προωθούν. Η κύρια δράση της είναι αποτρεπτική όπως φαίνεται και από το γεγονός ότι η αγχώδης ακράτεια θεραπεύεται κλινικά με την χρήση SSRI [2].

2.2.6 Αναπαραγωγικό σύστημα

Ο ρόλος της σεροτονίνης στο αναπαραγωγικό σύστημα αναφέρεται κυρίως στην σεξουαλική φυσιολογία. Φαίνεται πως είναι υπεύθυνη για την κολπική συστολή μέσω των 5-HT_{2A} υποδοχέων και για την καθυστέρηση της εκσπερμάτωσης. Κατά κύριο λόγο η έρευνα γύρω από τη σεροτονίνη και την αναπαραγωγική λειτουργία συνίσταται στην διερεύνηση της σεξουαλικής επιθυμίας και διέγερσης. Σεξουαλικές δυσλειτουργίες εμφανίζονται κατά ποσοστό 40% σε ασθενείς που λαμβάνουν φαρμακευτικές αγωγές SSRI.

Για την κύηση, αυξημένα επίπεδα σεροτονίνης βρίσκονται στον ορό του αίματος στις κυοφορούσες. Υπερβολική συγκέντρωση μπορεί να οδηγήσει στο φαινόμενο της προεκλαμψίας και συνεπώς σε αυτό της κατά πολύ σοβαρότερης εκλαμψίας [22-23].

2.2.7 Άλλες λειτουργίες

Η σεροτονίνη επιδράει σε πολλαπλούς μεταβολικούς ιστούς προωθώντας την απορρόφηση των θρεπτικών στοιχείων η την αποθήκευσή τους και καταστέλλοντας την ανώφελη θερμογένεση. Η περιορισμός της σύνθεσης περιφερικής σεροτονίνης φέρεται να βοηθάει την καταπολέμηση της παχυσαρκίας και του διαβήτη τύπου 2. Η 5-HT φαίνεται να επιδράει αναλγητικά ή σε κάποιες περιπτώσεις αυξάνοντας το αίσθημα του πόνου. Η έκκριση σεροτονίνης ευαισθητοποιεί τα περιφερικά νεύρα γύρω από τις φλεγμονές, τα οποία μεταφέρουν αλγαισθητική πληροφορία στο ΚΝΣ.

Τέλος, αναφέρονται διαταραχές στον ύπνο όπως αυτές της υπνικής άπνοιας ή της αυπνίας σαν σύμπτωμα του σεροτονινεργικού συνδρόμου [24,25].

- > **Αύξηση:** Καρκινοειδές σύνδρομο, κυστική ίνωση, μυϊκή δυστροφία Duchenne, ενδοκαρδίτιδα, ιδιοπαθής υπέρταση, νόσος του Huntington, μεταστάσεις, ημικρανία, έμφραγμα του μυοκαρδίου, κοιλιοκάκη, καρκίνος πνεύμονα (προκαλώντας έκτοπη παραγωγή), πόνος (χρόνιος), καρκίνος κυττάρων παγκρεατικών νησιδίων(προκαλώντας έκτοπη παραγωγή), πρωτοπαθής πνευμονική υπέρταση, σχιζοφρένεια, μυελοειδής καρκίνος θυροειδούς (προκαλώντας έκτοπη παραγωγή). **Φάρμακα:** Ιμιπραμίνη, μεθυλντόπα, αναστολείς της μονοαμινοξειδάσης (MAO), ρεζεργίνη, εκλεκτικοί αναστολείς επαναπρόσληψης σεροτονίνης (SSRIs) (σιταλοπράμη, δεσμεθουλσιταλοπράμη, φλουοξετίνη, μιλανσιπράνη, νορφλουοξετίνη, παροξετίνη, σετραλίνη, βενλαφαζίνη), τραμαδόλη (μειώνεται η επαναπρόσληψη της σεροτονίνης)
- > **Μείωση:** Κατάθλιψη, σύνδρομο Down, νόσος Parkinson, φαινοϋλκετονουρία, νεφρική ανεπάρκεια, τερατώματα (καλοήγη κυστικά)

Εικόνα 5. Πιθανές ερμηνείες παθολογικών τιμών [26].

2.3 Ψυχιατρικές και νευρολογικές παθήσεις

2.3.1 Κατάθλιψη

Ως κατάθλιψη ορίζεται η κατάσταση που χαρακτηρίζεται από έντονα συναισθήματα ανηδονίας, απελπισίας, εξαιρετικά χαμηλής διάθεσης και τάσεις αποφυγής οποιασδήποτε δραστηριότητας. Στα παραπάνω, μπορούν να προστεθούν μια πληθώρα άλλων αρνητικών συναισθημάτων και καταστάσεων όπως ενοχές, τάσεις αυτοκτονίας, αίσθημα εξάντλησης, υπνικές διαταραχές και λοιπές ψυχοσωματικές αντιδράσεις. Αναγνωρίζεται από την ψυχιατρική επιστήμη ως κλινική κατάθλιψη. Ο ρόλος της σεροτονίνης στην κατάθλιψη είναι ένα θέμα που εγείρει αντικρουόμενες θέσεις, όπως φαίνεται και από τον ορισμό της «σεροτονικής υπόθεσης». Η υπόθεση αυτή υποστηρίζει την αιτιακή σχέση της χαμηλής δραστηριότητας των σεροτονικών διόδων με την παθοφυσιολογία της κατάθλιψης. Δεν έχει προκύψει από την μελέτη της δράσης της σεροτονίνης στο νευρικό σύστημα αλλά από την δράση των αντικαταθλιπτικών και διάφορων ουσιών όπως η ρεσεργίνη, η οποία δρα σαν αδρενεργικός αποκλειστής των νευροδιαβιβαστών. Αξίζει να αναφερθεί, πως το σπουδαιότερο πειστήριο για την σχέση κατάθλιψης και σεροτονίνης προκύπτει από έρευνες για την τρυπτοφάνη, του πρόδρομου της σεροτονίνης. Μέσω ενδεδειγμένης διαιτητικής επιτήρησης της πρόσληψης της τρυπτοφάνης φαίνεται πως δημιουργούνται τάσεις υποτροπής σε ασθενείς που αναρρώνουν. Συνεπώς, το επικρατέστερο επιχείρημα όσον αφορά την αιτιότητα

κατάθλιψης και σεροτονίνης την συνδέει με την δράση και των υπολοίπων νευροδιαβιβαστών όπως της ντοπαμίνης.

Κάποιες από τις επιπλοκές που φαίνεται να έχει η κατάθλιψη στα σεροτονινεργικά συστήματα είναι τα εξής:

- Μειωμένη 5-HT ή/και 5-HIAA στο στέλεχος του εγκεφάλου

- Μειωμένα επίπεδα τρυπτοφάνης

- Κάποιοι υποδοχείς της σεροτονίνης εμφανίζονται πιο ευαισθητοποιημένοι ενώ άλλοι μπορεί να απευαισθητοποιούνται

- Η νευροενδοκρινική δραστηριότητα δεν ανταποκρίνεται στη σεροτονική διέγερση

- Πολλές θεραπείες με SSRI αυξάνουν την σεροτονινεργική δραστηριότητα

Παραδόξως, καμία θεωρία δεν έχει αποδειχθεί στην πράξη που να ενώνει όλα τα παραπάνω σε ένα κοινό σύστημα αξιολόγησης της δράσης των σεροτονινεργικών συστημάτων με την κατάθλιψη [4]. Πολλές έρευνες καταλήγουν στο συμπέρασμα πως όλα τα παραπάνω πλην των μειωμένων επιπέδων της τρυπτοφάνης δεν παρουσιάζουν σημαντική αναγκαιότητα για την εμφάνιση κατάθλιψης, αλλά η χρησιμότητα των SSRI δείχνει πως υπάρχει λόγος για περαιτέρω μελέτη της δράσης της σεροτονίνης [27].

2.3.2 Σχιζοφρένεια

Η σχιζοφρένεια αποτελεί μια ψυχική διαταραχή που επηρεάζει την αντίληψη του ασθενή για την πραγματικότητα. Κατηγοριοποιείται σε τύπου 1 αν τα συμπτώματα περιγράφονται ως θετικά (υπό την έννοια της αίσθησης των πραγμάτων που ένας ψυχικά υγιής δεν δύναται να αισθανθεί) ,δηλαδή απτικές, ακουστικές, οπτικές, οσφρητικές και γευστικές ψευδαισθήσεις, αυταπάτες, παραλήρημα, αποδιοργανωμένες σκέψεις και συμπεριφορά. Η σχιζοφρένεια τύπου 2 εκφράζει τις περιπτώσεις αρνητικών (υπολειμματικών) συμπτωμάτων δηλαδή έχει κάποιες κοινές συνισταμένες με την κατάθλιψη όπως ανηδονία, απώλεια κινήτρου η αβουλησία και άλλα συμπτώματα όπως λεξιπενία και έλλειψη επιθυμίας για κοινωνικές σχέσεις.

Οι έρευνες για την σχέση σεροτονίνης και σχιζοφρένειας παρουσιάζουν και εδώ κάποιες αντιφάσεις οι οποίες, όμως, πηγάζουν κυρίως από την πολυμορφία της ασθένειας και από το γεγονός ότι η σχιζοφρένεια αντιμετωπιζόταν μέχρι πρότινος χωρίς τον διαχωρισμό που περιγράψαμε παραπάνω. Τα παρακάτω φαίνεται να ισχύουν για την σχέση σχιζοφρένειας και σεροτονινεργικών συστημάτων:

-Οι ανταγωνιστές 5-HT₂ έχουν αντιψυχωτική δράση όσον αφορά τα συμπτώματα του τύπου 2

-Μειωμένα επίπεδα 5-HIAA στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό συσχετίζονται με ατροφία του εγκεφαλικού φλοιού σε πάσχοντες από σχιζοφρένεια

-Μια υποομάδα από χρόνια πάσχοντες έχει αυξημένα επίπεδα σεροτονίνης στο αίμα ή στα αιμοπετάλια.

Σημαντικό εύρημα που αποτελεί απόδειξη της αιτιότητας της σεροτονίνης στην σχιζοφρένεια αποτελεί η δράση της κλοζαπίνης και άλλων νευροληπτικών. Η αποτελεσματικότητα αυτών των ουσιών αναφέρεται στην επίδρασή τους στα σεροτονινεργικά συστήματα [5].

2.3.3 Νόσος Alzheimer

Το Alzheimer αποτελεί την συχνότερη περίπτωση νευροεκφυλιστικής άνοιας στους πληθυσμούς τρίτης ηλικίας. Είναι μη αναστρέψιμη και θανατηφόρα ασθένεια. Το πιο κοινό σύμπτωμα αφορά την απώλεια μνήμης ενώ όσο η νόσος προχωράει εμφανίζονται συμπτώματα όπως δυσκολίες στην έκφραση, διακυμάνσεις στην διάθεση και αποπροσανατολισμός.

Το σεροτονινεργικό σύστημα παίζει καθοριστικό ρόλο στην λειτουργία της μνήμης και της μάθησης με την σύμπραξη των συστημάτων της ντοπαμίνης, του γλουταμινικού οξέος και του γ-αμινο-βουτυρικού οξέος. Οι πάσχοντες από Alzheimer εμφανίζουν σοβαρές βλάβες στο σεροτονινεργικό τους σύστημα και έλλειμμα στις ποσότητες 5-HIAA, που μπορεί να οδηγήσει, μεταξύ άλλων, σε επιθετικές συμπεριφορές. Σε έρευνες με ασθενείς με ιστορικό κατάθλιψης τα SSRI καθυστερούν την εμφάνιση του Alzheimer. Τέλος, έρευνες δείχνουν πως οι υποδοχείς 5-HT₆ μαζί με τις αμυλοειδείς πρωτεΐνες είναι μείζονος σημασίας για την ανάπτυξη της ασθένειας [28-30].

2.3.4 Νόσος Parkinson

Η νόσος Parkinson είναι μια χρόνια νευροεκφυλιστική διαταραχή που εμφανίζει συμπτώματα κινησιολογίας όπως βραδυκινησία, τρέμουλο, δυσκαμψία και ασταθή στάση σώματος. Τα συμπτώματα αυτά μπορεί να συνοδεύονται από κοινά συμπτώματα ψυχικών παθήσεων όπως κόπωση, κατάθλιψη και υπνικές διαταραχές.

Μια παραδοχή που κερδίζει έδαφος συνδέει το σύνδρομο με προοδευτική και μη γραμμική απώλεια των σεροτονινεργικών υποδοχέων . Έρευνα έχει δείξει πως είναι πιθανό η σεροτονίνη να ευθύνεται για τα μη κινησιολογικά συμπτώματα του Parkinson καθώς και ότι η αλλαγή στη συγκέντρωση της σεροτονίνης είναι δείγμα της πρώιμης εμφάνισής της [31]. Για τα κινησιολογικά συμπτώματα του Parkinson συχνά τα αίτια αποδίδονται στην ντοπαμίνη [32].

2.3.5 Ντελίριο

Το ντελίριο ή οξύ οργανικό ψυχοσύνδρομο χαρακτηρίζεται από μείωση της φυσιολογικής γνωστικής λειτουργίας. Αφορά διαταραχές στην ικανότητα προσοχής, στην συνείδηση και στις γνωσιακές λειτουργίες. Μπορεί να εκδηλωθεί και μέσω ψυχοκινητικών διαταραχών όπως η υπερκινησία και άλλων συμπτωμάτων που παρουσιάζουν επικάλυψη με τα ήδη αναφερθέντα ψυχικά προβλήματα. Εικάζεται ότι για το ντελίριο ενδέχεται να ευθύνεται ο πρόδρομος της 5-HT, δηλαδή το αμινοξύ 5-HTP (5-υδροξυτρυπτοφάνη) ή οξιτριπτάνη [33]. Η ανισορροπία του γενικότερου σεροτονινεργικού συστήματος (5-HT, 5-HIAA) είναι ένας από του πιθανούς μηχανισμούς για το ντελίριο. Αύξηση των τιμών μπορεί να παρατηρηθεί μετά από πρόσληψη SSRI συνοδευόμενη με οξεία φαινόμενα συνδρόμου στέρησης. Έρευνα έχει δείξει πως εμφανίστηκε σημαντική μείωση στα επίπεδα της τρυπτοφάνης σε ένα σημαντικό αριθμό ασθενών με ντελίριο σε περίοδο μετεγχειρητικής φροντίδας [34]. Μια άλλη έρευνα συνδέει τις τιμές και της 5-HIAA μαζί με αυτές της σεροτονίνης σε νοσούντες που υποφέρουν από τρέμουλο λόγω ντελιρίου που έχει επέλθει από πρόσληψη της δραστικής ουσίας κλοζαπίνης. Στην τελευταία περίπτωση οι τιμές ήταν αυξημένες [35].

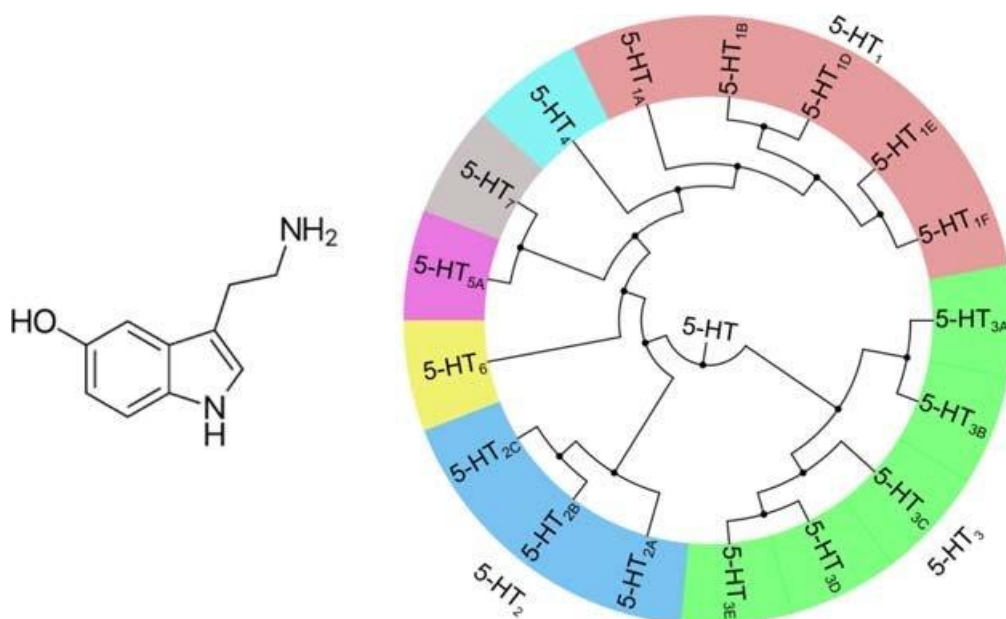
2.4 Καρκινοειδείς όγκοι, καρκινοειδές σύνδρομο και σεροτονίνη

Οι καρκινοειδείς όγκοι θεωρείται κοινώς πως ανακύπτουν από τα εντεροχρωμαφινικά κύτταρα. Αυτοί οι όγκοι συνήθως βρίσκονται στην σκωληκοειδή απόφυση, στον ιλεό και στον ορθό. Όπως έχει αναφερθεί τα εντεροχρωμαφινικά κύτταρα αποτελούν σημαντικό μέρος σύνθεσης και αποθήκευσης της σεροτονίνης. Έτσι, η υπερβολική παραγωγή της είναι το πιο σύνηθες χαρακτηριστικό των εντερικών καρκινοειδών όγκων. Το καρκινοειδές σύνδρομο προκαλείται από ένα καρκινοειδή όγκο που εκκρίνει σεροτονίνη στην αιματική κυκλοφορία. Οι ασθενείς που πάσχουν από το καρκινοειδές σύνδρομο έχουν αυξημένα επίπεδα σεροτονίνης στο αίμα και αυξημένα επίπεδα 5-HIAA στα ούρα. Τα συμπτώματα του καρκινοειδούς συνδρόμου είναι υπεραιμία του προσώπου ή/και του δέρματος και αισθήματος ζέστης, δυσκολία στην αναπνοή ή συριγμός, ευρυαγγείες και διάρροια [36-37].

2.5 Υποδοχείς σεροτονίνης

Όπως γίνεται εμφανές από τα παραπάνω, η επίδραση της σεροτονίνης στην ανθρώπινη συμπεριφορά απλώνεται πάνω σε ένα ευρύ φάσμα που καλύπτει την διάθεση, την μνήμη, τα συναισθήματα, τις ορμές και τις γνωστικές λειτουργίες. Οι νευρώνες της σεροτονίνης στο στέλεχος του εγκεφάλου στέλνουν σήματα που καταλήγουν με στοιχειοθετημένο τρόπο στον εγκεφαλικό φλοιό, στο μεταιχμιακό σύστημα, στον ρομβοειδή εγκέφαλο και στον μεσεγκέφαλο. Η κατανομή των ποικίλων υποδοχέων και των σεροτονινικών νευρώνων στον εγκέφαλο παρουσιάζει την ιδανική ανατομία με σκοπό την επιτήρηση των αναφερόμενων λειτουργιών. Κάθε μία από αυτές τις λειτουργίες προσδιορίζεται με συγκεκριμένα μοτίβα και νευρωνικά δίκτυα. Συνεπώς η μελέτη της επιρροής της σεροτονίνης σε κάθε ξεχωριστή

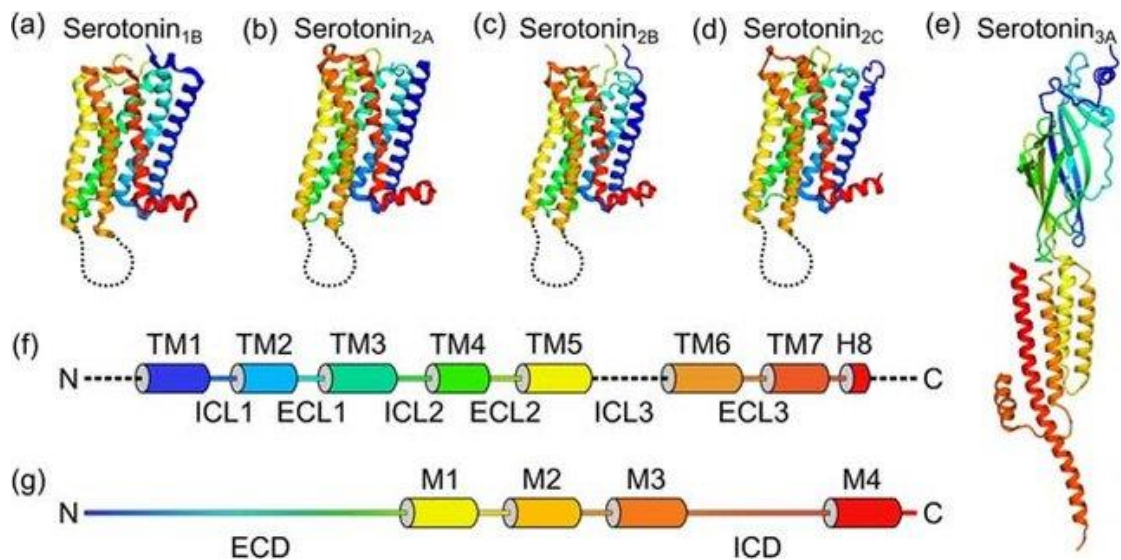
συμπεριφορική αντίδραση πρέπει να συναρτάται με την μελέτη των υποδοχέων που βρίσκονται στις διαφορετικές περιοχές του εγκεφάλου.



Εικόνα 6. Κατηγοριοποίηση των υποδοχέων της 5-HT [38].

Καθώς κάθε συμπεριφορά ρυθμίζεται από μια ομάδα υποδοχέων, κάθε υποδοχέας εκφράζεται σε διαφορετικές περιοχές και πιθανότατα συμβάλλει στον έλεγχο διαφορετικών συμπεριφορικών διαδικασιών.

Οι έξι υποδοχείς συζευγμένοι με πρωτεΐνη G (GPCR- G-Protein Coupled Receptors) της σεροτονίνης χωρίζονται αρχικά σε 7 κλάσεις από 5-HT₁ μέχρι 5-HT₇ που με την σειρά τους διαφοροποιούνται συνολικά σε 13 υποκατηγορίες (Εικόνα 6).



Εικόνα 7.Η δομή διάφορων υποδοχέων σεροτονίνης [38].

Οι GPCR αποτελούνται από μία μοναδική πολυπεπτιδική αλυσίδα με επτά διαμεμβρανικούς α -έλικες που συνδέονται με τρεις ενδοκυτταρικούς και τρεις εξωκυτταρικούς βρόγχους (C-terminus και N-terminus αντίστοιχα). Η μετάδοση του σήματος εκκινεί από τα προσδέματα που συνδέονται σε μια περιοχή που οριοθετείται από τους διαμεμβρανικούς έλικες. Οι ενδοκυτταρικές περιοχές εικάζεται ότι αλληλεπιδρούν με κυτοπλασμικές πρωτεΐνες που λόγω της ευαισθησίας τους σε αγωνιστές υποκύπτουν σε διαμορφωτικές αλλαγές στην δομή των υποδοχέων. Αυτές οι αλλαγές τελικά θα φέρουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία των ώσεων και των σημάτων που ρυθμίζουν τις κυτταρικές λειτουργίες. Όσον αφορά την δομή των υποδοχέων, το μοντέλο τους βασιζόταν στην πειραματική δομή της βακτηριοροδοψίνης, παρότι δεν είναι GPCR, και αργότερα στην χαμηλή ανάλυσης προβολή της δομής της ροδοψίνης [39]. Στην εικόνα 7 εμφανίζεται η δομή κάποιων GPC υποδοχέων της σεροτονίνης.

2.5.1 Υποδοχείς 5-HT₁

2.5.1.1 Υποδοχείς 5-HT_{1A}

Ο υπότυπος 5-HT_{1A} ήταν ο πρώτος σεροτονικός υποδοχέας που κλωνοποιήθηκε στον άνθρωπο και εν συνεχεία στον αρουραίο. Λόγω την μεγάλης διαθεσιμότητας υψηλά επιλεκτικών αγωνιστών και ανταγωνιστών, ο υπότυπος 5-HT₁ έχει πλέον χαρακτηριστεί ανατομικά, ηλεκτροφυσιολογικά και φαρμακολογικά. Η χωρική κατανομή τους έχει προσδιοριστεί με ενδείξεις για υψηλές συγκεντρώσεις στον

ιππόκαμπο, την αμυγδαλή και τον στεφανιαίο φλοιό του εγκεφάλου. Τυπικά προσδέματα των υποδοχέων 5-HT_{1A} προέρχονται από την κατηγορία των πολυακόρεστων αρυλοπιπεραζίνων (arylpiperazine) όπως η βουσπιρόνη - η οποία χρησιμοποιείται συχνά ως αγχολυτικό-, η Gepirone και η Ipsapirone. Οι υποδοχείς αυτοί μεσολαβούν στον περιορισμό της έκκρισης της σεροτονίνης και για αυτό η απευαισθητοποίησή τους είναι κρίσιμη για την θεραπεία με SSRI. Οι αγωνιστές των 5-HT_{1A} υποδοχέων φαίνεται να επιδρούν σε δραστηριότητες που σχετίζονται με το άγχος, την κατάθλιψη, τον θυμό, την όρεξη και τον περιορισμό της καταληψίας και του εμετού, ενώ υπάρχουν και ενδείξεις για παρεμβάσεις στην παρορμητικότητα και ακόμα και τις τάσεις αλκοολισμού [40-42].

2.5.1.2 Υποδοχείς 5-HT_{1B}

Έχουν κλωνοποιηθεί στον αρουραίο, στο ποντίκι καθώς και στο ομόλογο τους στον άνθρωπο. Είναι από τους πρώτους υποδοχείς που περιεγράφηκαν. Παρουσιάζει 77% ομολογία στις διαμεμβρανικές περιοχές του με αυτή του υποτύπου 5HT_{1D} αλλά έχει πανομοιότυπες φαρμακολογικές ιδιότητες. Αυτοί οι υποδοχείς αποδεσμεύονται από την περιοχή σύνθεσης τους και καταλήγουν σε τερματικούς νευροάξονες. Ρυθμίζουν την κυκλοφορία και άλλων νευροδιαβιβαστών όπως της ακετυλοχολίνης, της ντοπαμίνης και του GABA. Σαν προσδέματα έχουν βρεθεί οι αρυλοξυαλκυλαμίνες όπως η prorganolol και pindolol. Υπάρχουν ενδείξεις από παλαιότερες έρευνες για το ρόλο της 5-HT_{1B} στα τρωκτικά όπως την θερμορύθμιση, την αναπνοή, την σεξουαλική συμπεριφορά, το άγχος και την επιθετικότητα. Πιο σύγχρονες μελέτες έχουν δείξει συσχέτισμό με τον ύπνο και την κινητικότητα [41,42].

2.5.1.3 Υποδοχείς 5-HT_{1D}

Βρίσκονται σε μεγάλους πληθυσμούς στο ΚΝΣ. Ένας παρόμοιος τύπος, η 5-HT_{1R} έχει αναγνωρισθεί στον εγκέφαλο κουνελιού. Δεν έχουν βρεθεί αρκετά προσδέματα για αυτού του τύπου υποδοχέων. Ένας αγωνιστής είναι η sumatriptan, η οποία όμως δεν παρουσιάζει πολύ μεγαλύτερη επιλεκτικότητα σε σχέση με τους υποτύπους 5-HT_{1A} και 5-HT_{1B}. Πολλές ινδολεαλκυαμίνες δένονται με ισχυρούς δεσμούς αλλά με μικρή επιλεκτικότητα. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και το γεγονός πως ο ρόλος τους παραμένει κατά κύριο λόγο άγνωστος ενώ όποιες εικασίες παραμένουν ατεκμηρίωτες. Παρόμοια συμπεράσματα για την απουσία σημαντικών αγωνιστών ή

ανταγωνιστών και την κλινική σημασία προκύπτουν και για τους υπότυπους 5HT_{1E} και 5HT_{1F}.

2.5.2 Υποδοχείς 5-HT₂

2.5.2.1 Υποδοχείς 5-HT_{2A}

Παρότι οι υποδοχείς 5-HT₂ ήταν από τους προγενέστερους πληθυσμούς υποδοχέων που ταυτοποιήθηκαν, η έρευνα για αυτούς βρίσκεται σε μεταβατικό στάδιο λόγω του σχετικά πρόσφατου διαχωρισμού τους σε 3 υπότυπους A, B και C. Ο υπότυπος 5-HT_{2A}-αρχικά 5-HT₂- έχει υποβληθεί σε εκτενείς έρευνες αφού υπήρξε από τους πρώτους υπότυπους που ανακαλύφθηκαν. Έχουν κλωνοποιηθεί σε ποικίλα είδη όπως ο άνθρωπος και παρουσιάζουν υψηλό βαθμό ομολογίας της τάξεως του 90%. Απαντώνται σε υψηλές συγκεντρώσεις στον εγκέφαλο και ειδικά στην περιοχή του νεοφλοιού (neocortex) του εγκεφάλου. Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο πρόσδεμα είναι η κετανσερίνη η οποία συνδέεται και με τον υπότυπο C. Άλλα κοινά προσδέματα είναι η πιπεραζίνη και η spiperone. Εντούτοις, δεν έχει απομονωθεί κάποιο πρόσδεμα με ιδιαίτερα υψηλή επιλεκτικότητα. Για τη δράση της 5-HT_{2A} στον οργανισμό, της έχουν αποδοθεί κοινές και επικαλυπτόμενες με άλλους υποδοχείς λειτουργίες όπως φυσιολογικές και ψυχοπαθολογικές παθήσεις. Δεν έχει προσδιοριστεί κάποια συγκεκριμένη λειτουργία που να οφείλεται αποκλειστικά σε αυτόν τον υπότυπο καθώς φαίνεται πως η δράση της συναρτάται με αυτήν των υποτύπων B και C. Ο υπότυπος A παρουσιάζει 70% ομολογία με τους B και C.

2.5.2.2 Υποδοχείς 5-HT_{2B} και 5-HT_{2C}

Λόγω της μεγάλης ομολογίας με τον υπότυπο A φαίνεται πως έχουν παρόμοιες τάσεις και στα προσδέματα με μόνο ορισμένες διαφορές στην συγγένεια και στην επιλεκτικότητα οπότε τα προαναφερθέντα ισχύουν σε μεγάλο βαθμό και για τους υπότυπους B και C με μεγαλύτερο ενδιαφέρον να συγκεντρώνει ο υπότυπος C. Έρευνες συνδέουν αυτόν τον τύπο με διατροφικές διαταραχές και επιληψία σε ποντίκια που είχαν χαμηλές συγκεντρώσεις του υποδοχέα.

2.5.3 Υπόλοιποι υποδοχείς

2.5.3.1 Υποδοχείς 5-HT₃

Ανταγωνιστές αυτού του υπότυπου έχουν αποδειχτεί ως αποτελεσματικοί για την θεραπεία ναυτία και εμετού σε καρκινοπαθείς που έχουν υποβληθεί σε χημειοθεραπείες. Υπάρχουν ενδείξεις για ενδεχόμενη αποδοτικότητα στη θεραπεία ημικρανιών ή πόνου που προέρχεται από ημικρανίες. Άλλες έρευνες υποδεικνύουν πιθανή ευεργετική δράση στην μνήμη και στον έλεγχο τους άγχος και άλλων αρνητικών συναισθημάτων. Τέλος, μπορεί να περιορίσουν τα φαινόμενα υποτροπής μετά από θεραπεία απεξάρτησης από το αλκοόλ, το τσιγάρο ή άλλες διεγερτικές ουσίες. Ο υπότυπος 3 αποτελεί εξαιρετικό εύρημα καθώς δεν εμφανίζει τις τυπικές παρενέργειες όταν χρησιμοποιείται θεραπευτικά. Κοινά προσδέματά του βρίσκονται στην κατηγορία των arylpiperazines [41-43].

2.5.3.2 Υποδοχείς 5-HT₄

Η έρευνα για την λειτουργία αυτού του υπότυπου βρίσκεται σε πρώιμο στάδιο λόγω της πρόσφατης ανακάλυψης προσδεμάτων του. Κάποια πρώτα στοιχεία κάνουν λόγο για αντιστοιχία με μαθησιακές λειτουργίες και λειτουργίες της μνήμης ενώ φαίνεται να βρίσκονται σε χαμηλή συγκέντρωση σε ασθενείς με Alzheimer [42].

2.5.3.3 Υποδοχείς 5-HT₅ και 5-HT₆

Η κλινική σημασία αυτών των δύο υπότυπων δεν έχει προσδιοριστεί με κάποια καταληκτική και ολοκληρωμένη έρευνα [42].

2.5.3.4 5-HT₇

Βρίσκονται κυρίως στο ΚΝΣ. Κοινώς χρησιμοποιούμενες αντικαταθλιπτικές ουσίες συνδέονται με αυτόν τον υπότυπο με υψηλή συγγένεια. Σχετίζονται με τη λειτουργία της μάθησης και της διάθεσης καθώς και με τη νευροενδοκρινή συμπεριφορά [41,42].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

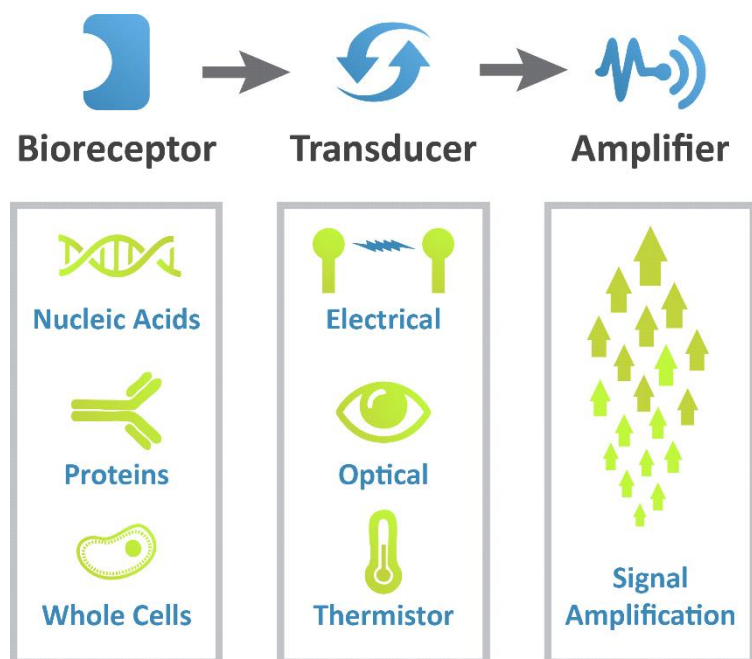
Βιοαισθητήρες

Όπως κατέστη σαφές από το προηγούμενο κεφάλαιο η μέτρηση της σεροτονίνης ανάγεται σε καίριας σημασίας διαδικασία για την παρακολούθηση ενός τεράστιου εύρους ιατρικών νοσημάτων. Αδιαμφισβήτητα, λοιπόν, απαιτείται συνεχής επανεξέταση των μεθόδων λήψης μετρήσεων στους βιοαισθητήρες της σεροτονίνης. Ο σκοπός αυτού είναι η επίτευξη των βελτιωμένων χαρακτηριστικών που προσδιορίζουν την άριστη λειτουργία των αισθητήρων δηλαδή της ακρίβειας, της ευαισθησίας, της αξιοπιστίας, του χρόνου απόκρισης κ.α. Σε αυτό το κεφάλαιο θα αναλυθεί το θεωρητικό υπόβαθρο των βιοαισθητήρων, της τεχνολογία των πυκνωτών ενδοδιαπλεκόμενων καλωδίων (interdigitated capacitors) ενώ θα αναπτυχθούν επιχειρήματα για την προτίμηση αυτής της τεχνολογίας. Στη συνέχεια, θα τεθούν τα πλαίσια και οι σύγχρονες μέθοδοι μέτρησης της σεροτονίνης όπως παρουσιάζονται σε υπάρχουσες έρευνες.

3.1 Γενικά στοιχεία για τους βιοαισθητήρες και τους βιοϋποδοχείς

Οι βιοαισθητήρες είναι αισθητήριες ηλεκτρονικές διατάξεις οι οποίες χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση ή την ποσοτικοποίηση μιας χημικής ουσίας η οποία αναφέρεται σε κάποια βιολογική λειτουργία. Το υπό εξέταση δείγμα αυτών των διατάξεων μπορεί να ναι κάποιος ολόκληρος μικροοργανισμός, ένα αντιγόνο, κάποιο κύτταρο ή ιστός κ.α. Η απόκριση ενός τέτοιου αισθητήρα είναι συνήθως ένα μετρήσιμο ηλεκτρικό σήμα το οποίο έχει προκύψει από την μετατροπή του σήματος που αποτελεί αποτέλεσμα της μεταβολής που προκύπτει στην επιφάνεια του βιοαισθητήρα με την προσθήκη του υπό εξέταση δείγματος. Τέτοιες μεταβολές ενδεικτικά μπορεί να αναφέρονται σε συγκεντρώσεις διάφορων μορίων, διαφορών στην πρόσληψη ή την απελευθέρωση αερίων, στην εκπομπή φωτός, θερμότητας κ.α.

Το γενικευμένο σύστημα μιας συσκευής βιοαισθητήρα αποτελείται από μια διάταξη υποδοχής γνωστή και ως βιοϋποδοχέας, η οποία είναι υπεύθυνη για τη δέσμευση της χημικής ουσίας που βρίσκεται σε εξέταση, από ένα ημιαγώγιμο στοιχείο μετατροπέα και τέλος από ένα ηλεκτρονικό σύστημα ενισχυτή σήματος, ψηφιακού επεξεργαστή και απεικόνισης του αποτελέσματος (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Αρχή λειτουργίας μιας συσκευής βιοαισθητήρα [44].

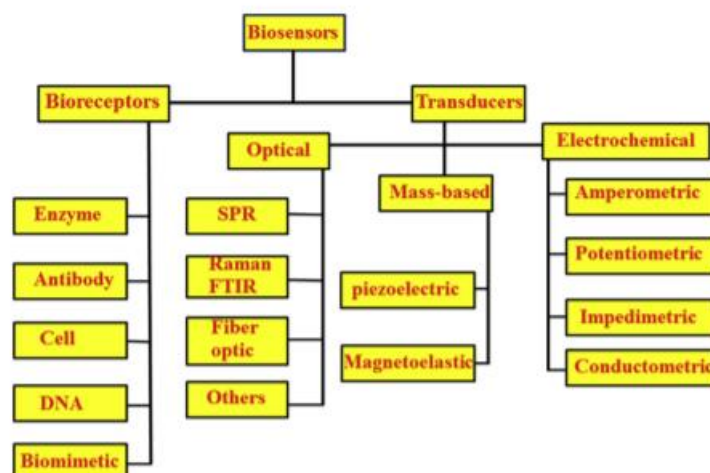
Όπως με κάθε αισθητήρα, οι βιοαισθητήρες απαιτείται να συγκεντρώνουν μια ομάδα από ιδιότητες που θα τους καθιστούν κατάλληλους για χρήση. Ο ιδανικός βιοαισθητήρας χαρακτηρίζεται από την ευαισθησία, τη μεγάλη επιλεκτικότητα, την ταχεία και ακριβής απόκριση ανεξάρτητη των χημικών και φυσικών μεταβολών και του περιβάλλοντος, την αξιοπιστία και την επαναληψιμότητα, την εύκολη και φθηνή κατασκευή και την μεγάλη διάρκεια ζωής.

Οι βιοαισθητήρες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με τον τύπο μετατροπέα που χρησιμοποιούν. Έτσι διακρίνονται σε ηλεκτροχημικούς, οπτικούς, θερμιδομετρικούς και ακουστικούς.

Οι ηλεκτροχημικοί αισθητήρες που αναφέρονται στην παρούσα εργασία βασίζονται στην μέτρηση ενός ηλεκτρικού μεγέθους δηλαδή δυναμικό, ρεύμα φορτίο ή αντίσταση. Αποτελούν την πιο κοινή κατηγορία βιοαισθητήρων, ενώ συνήθως είναι αμπερομετρικοί ή/και ποτενσιομετρικοί. Ο μετατροπέας συνήθως είναι ένα ηλεκτρόδιο το οποίο έχει επικαλυφθεί με ένα στρώμα βιοϋποδοχέων.

Οι βιοϋποδοχείς αποτελούν τα στοιχεία στον αισθητήρα που επιτελούν την λειτουργία της ανίχνευσης και της αναγνώρισης των δειγμάτων. Τα διάφορα είδη βιοϋποδοχών που χρησιμοποιούνται ορίζουν και τις διακεκριμένες κατηγορίες των βιοαισθητήρων. Οι βιοϋποδοχείς είναι υπεύθυνοι για τη δέσμευση του αναλύτη που αφορά την κάθε εφαρμογή στην επιφάνεια του βιοαισθητήρα με σκοπό να γίνει η μέτρηση. Οι πιο κοινοί βιοϋποδοχείς διακρίνονται στις εξής πέντε κατηγορίες ανάλογα με την αλληλεπίδρασή τους με το υπό εξέταση δείγμα. Αντίστοιχα, ορίζονται και οι κατηγορίες των βιοαισθητήρων.

1. Ενζυμικές αλληλεπιδράσεις
2. Αλληλεπίδραση αντισώματος-αντιγόνου
3. Αλληλεπίδραση νουκλεϊκού οξέος
4. Κυτταρικές αλληλεπιδράσεις
5. Αλληλεπιδράσεις μέσω βιομιμητικών υλικών [45,46].



Εικόνα 9. Κατηγοριοποίηση βιοαισθητήρων ανάλογα τον βιοϋποδοχέα και τον μετατροπέα [45].

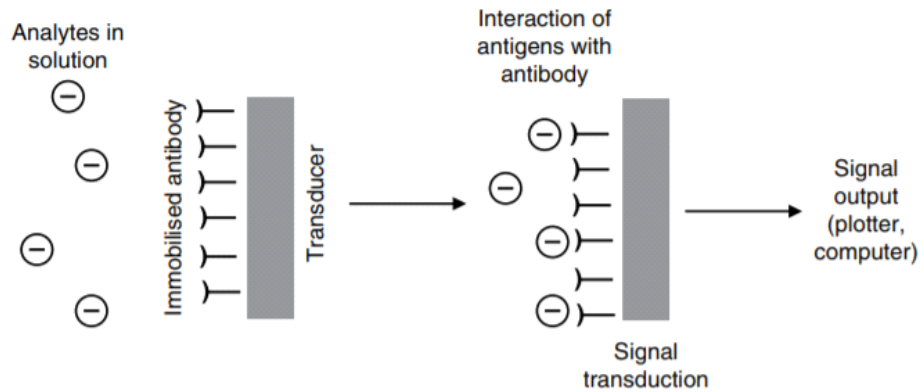
3.2 Κατηγορίες βιοαισθητήρων με βάση τους βιοϋποδοχείς

3.2.1 Ενζυμικοί βιοϋποδοχείς και βιοαισθητήρες

Οι ενζυμικοί βιοαισθητήρες ανήκουν στην κατηγορία των καταλυτικών αισθητήρων. Στους καταλυτικούς αισθητήρες η μέτρηση αφορά την αλλαγή στη συγκέντρωση του

συστατικού που ακολουθεί μιας καταλυτική αντίδραση. Ιστορικά οι βιοαισθητήρες γλυκόζης αποτελούν τα πιο πρώιμα παραδείγματα διατάξεων ανίχνευσης βιολογικών δειγμάτων. Ο πρώτος ανιχνευτής γλυκόζης βασιζόταν στην ακινητοποίηση της οξειδάσης της γλυκόζης στην επιφάνεια ενός ηλεκτροδίου ανίχνευσης οξυγόνου. Η ανάγκη για την εφεύρεση συσκευών που θα είχαν την ικανότητα να μετρήσουν της γλυκόζη στο αίμα προέκυψε από τα αυξανόμενα κρούσματα του διαβήτη ανά την υφήλιο. Πλέον, ο διαβήτης συνιστά ένα από τα πιο διαδεδομένα και σοβαρά προβλήματα υγείας με προβλεπόμενη διάδοση της τάξεως των 300 εκ ανθρώπων το έτος 2045. Από αυτό γίνεται εμφανής η επιτακτική ανάγκη της άμεσης και ακριβούς μέτρησης της γλυκόζης. Το 2016 η αγορά βιοαισθητήρων γλυκόζης έφτασε τα 15 με 16 δισ. δολάρια. Την ανάπτυξη των αισθητήρων της γλυκόζης στη ροή του αίματος ακολούθησαν και άλλα συστήματα βασισμένα στα ένζυμα. Τα ένζυμα συνιστούν την πιο διαδεδομένη κατηγορία μορίων όσον αφορά την χρήση του σαν βιοϋποδοχείς σε αισθητήριες διατάξεις και εφαρμογές. Αυτή η προτίμηση έχει σαν αφορμή τη δυνατότητα για ανάπτυξη διατάξεων με υψηλή επιλεκτικότητα. Επιπλέον, η διαδικασία της ανίχνευσης του δείγματος και στη συνέχεια η μέτρηση της ποσότητάς του διευκολύνονται μέσω της καταλυτικής αντίδρασης του ενζύμου με το δείγμα, αφού μειώνεται κατά πολύ το κατώτερο όριο ανίχνευσης σε σχέση με άλλες κοινές τεχνικές πρόσδεσης. Σχεδόν όλα τα ένζυμα είναι πρωτεΐνες. Η υψηλή καταλυτική ικανότητα των ενζύμων λόγω της πρωτεϊνικής τους φύσης τα αποτρέπει από το να καταναλώνονται ή να φτάνουν σε κορεσμό κατά την αντίδραση της κατάλυσης ενός συγκεκριμένου υποστρώματος. Το ένζυμο αναγνωρίζει κάποιον στόχο όπως ακριβώς ένα κλειδί εφαρμόζει σε μια κλειδαριά. Τα μειονεκτήματα της χρήσης των ενζύμων σαν βιοϋποδοχείς εμφανίζονται σε περιπτώσεις που το ένζυμο μπορεί να διασπαστεί στα συστατικά του αμινοξέα [45,46].

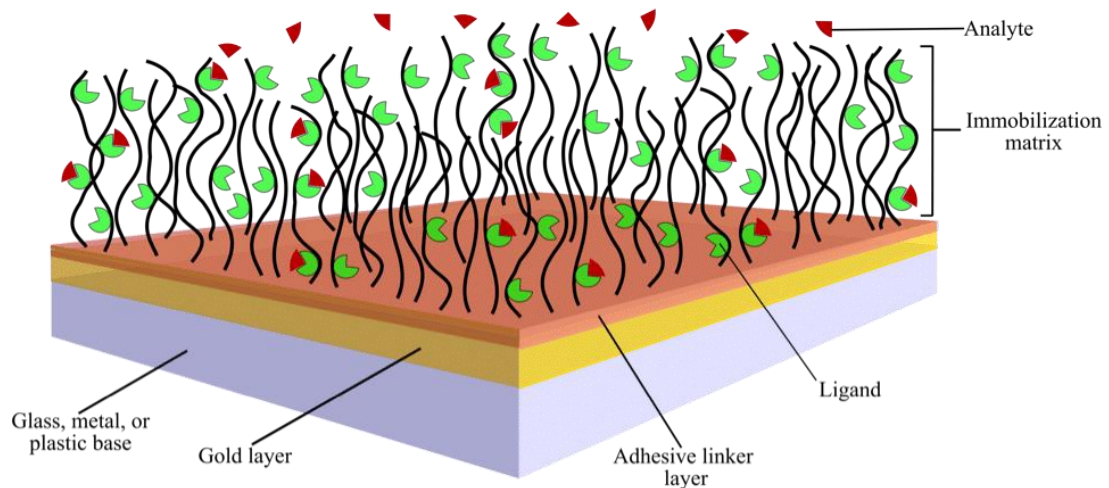
3.2.2. Βιοαισθητήρες και βιοϋποδοχείς αντισώματος-αντιγόνου



Εικόνα 10. Σχηματικό διάγραμμα ανοσοαισθητήρα [47].

Τα αντισώματα είναι πρωτεΐνες σχήματος Υ που παράγονται από τους έμβριους οργανισμούς σαν απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος ενάντια σε κάποιο πιθανό εχθρό όπως είναι ένα βακτήριο ή ένας ιός. Ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία των ανοσοσφαιρίνων (immunoglobulins). Η γεωμετρία τους χαρακτηρίζεται από δύο βασικές δομικές μονάδες με δύο μεγάλες βαριές αλυσίδες που συνθέτουν την μορφή του Υ και δύο μικρές ελαφρές αλυσίδες. Υπάρχουν πέντε ομάδες ισότοπων αντισωμάτων (IgA, IgD, IgE, IgG, IgM) που επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες στην ανοσολογική απόκριση. Δένονται στην ουσία που αποτελεί την αιτία της δημιουργίας τους δηλαδή τα αντιγόνα με έναν αρκετά υψηλό βαθμό επιλεκτικότητας με δεσμούς υδρογόνου και άλλους ομοιοπολικούς δεσμούς στη σχισμή του πρωτεϊνικού μορίου. Η επιλεκτικότητα αυτή οφείλεται στην εξαιρετικά ποικιλόμορφη απόληξη που βρίσκεται στην κορυφή της πρωτεΐνης που δίνει τη δυνατότητα για τη δημιουργία εκατομμυρίων συνδυασμών διαφόρων αντισωμάτων σε μια σχετικά μικρή περιοχή σύνδεσης. Οι δύο υποκατηγορίες αντισωμάτων ορίζονται ως μονοκλωνικά και πολυκλωνικά αντισώματα. Τα πολυκλωνικά αντισώματα επιδεικνύουν μεγάλη ευαισθησία αλλά μικρότερη επιλεκτικότητα καθώς μπορούν να αναγνωρίσουν διαφορετικά αντιγόνα. Τα μονοκλωνικά είναι αυτά που συγκεντρώνουν το ενδιαφέρον καθώς είναι αυτά που δημιουργούνται σαν απόκριση σε συγκεκριμένο αντιγόνο και είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους μετά από κάθε επανεμφάνισή του. Οι αισθητήρες που βασίζονται στις αντιδράσεις αντιγόνου-αντισώματος κατηγοριοποιούνται στην ομάδα των αισθητήρων συγγένειας και ονομάζονται

συνήθως ανοσοαισθητήρες. Όπως και με τους ενζυμικούς αισθητήρες η αλληλεπίδραση προσομοιάζει αυτή ενός κλειδιού με μια κλειδαριά και έτσι εξασφαλίζεται η αποκλειστική δέσμευση του αντισώματος με συγκεκριμένο αντιγόνο (Εικόνα 10). Η σύνδεση που προκύπτει είναι υψηλής συγγένειας και οδηγεί σε κάποιες φυσιοχημικές μεταβολές, που αφού συνδυαστούν με κάποιον ιχνηθέτη όπως είναι τα φθορίζοντα μόρια, τα ένζυμα ή τα ραδιοϊσότοπα, δημιουργούν μια απόκριση σήματος. Η μέτρηση μπορεί να προκύψει και έμμεσα μέσω κάποιας αντίδρασης σύζευξης με κάποιο ένζυμο. Ένα μειονέκτημα της σύνδεσης αντισώματος-αντιγόνου είναι γενικά η μη αντιστρεψιμότητα της αλληλεπίδρασής τους εκτός αν γίνει χρήση οργανικών διαλυτών σε υψηλό pH ή υπερηχητικής ακτινοβολίας. Εντούτοις, το παραπάνω γεγονός δεν είναι τόσο αποτρεπτικό, αφού τελικά οι ανοσοαισθητήρες βρίσκουν εφαρμογή σε ένα μεγάλο φάσμα ιατρικών και μη εφαρμογών. Ενδεικτικά, αναφέρεται η διάγνωση λοιμώξεων ή καρκινικών όγκων, η ανίχνευση ιών και βακτηρίων, ο έλεγχος της ρύπανσης του περιβάλλοντος και των βιομηχανικών αποβλήτων. Οι ανοσοαισθητήρες ταξινομούνται με βάση τη χρήση ή μη ιχνηθέτη, το τύπο του αναπροσδιορισμού, το υλικό κατασκευής τους, τη χημεία πρόσδεσης και την φυσιοχημική παράμετρο. Ένας ευρύτατα διαδεδομένος ανοσοαισθητήρας είναι το κοινό τεστ εγκυμοσύνης που ανιχνεύει την παρουσία της χοριακής γοναδοτροπίνης (hCG). Τέλος, αναφέρεται μια υποκατηγορία των ανοσοαισθητήρων, αυτή των εμπεδησιομετρικών ανοσοαισθητήρων στους οποίους η μετρούμενη ποσότητα είναι η χωρητικότητα του πυκνωτή που μεταβάλλεται μετά την σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος [45,46,48]. Στην επόμενη εικόνα (Εικόνα 11) φαίνεται η επιφάνεια ανίχνευσης ενός βιοαισθητήρα.

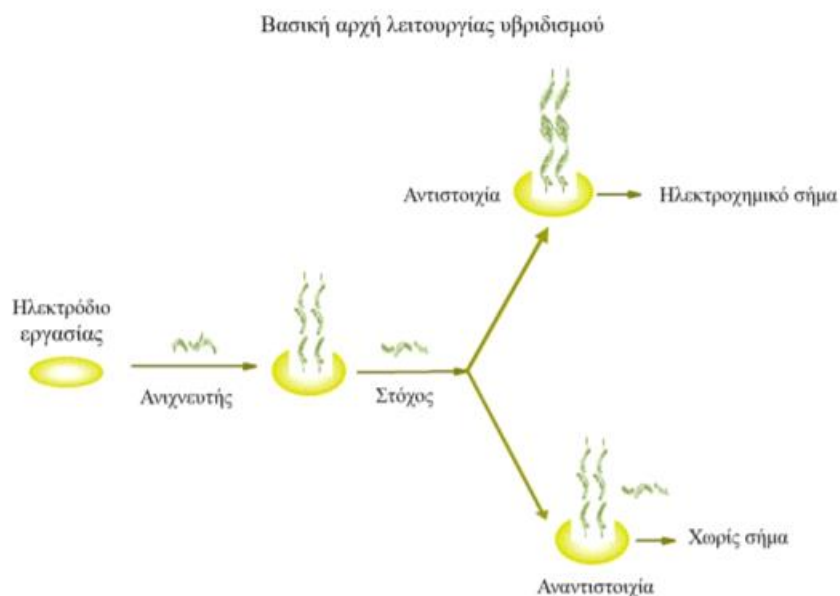


Εικόνα 11. Επιφάνεια ανίχνευσης βιοαισθητήρα [49].

3.2.3 Βιοϋποδοχείς νουκλεϊκού οξέος και αισθητήρες γονιδίων, RNA, DNA (genosensors)

Το DNA απαντάται σε όλους τους έμβριους οργανισμούς. Η λειτουργία του συνοψίζεται στην αποθήκευση πληροφορίας όπως αυτή για την δημιουργία συγκεκριμένων πρωτεϊνών. Το RNA έχει τον ρόλο αγγελιαφόρου μεταξύ του DNA και των ριβοσωμάτων που συνθέτουν πρωτεΐνες και τον ρόλο ρυθμιστή της γονιδιακής έκφρασης. Το DNA και το RNA αποτελούνται από τις νουκλεϊκές βάσεις δηλαδή την αδενίνη, την κυτοσίνη, την γουανίνη και την θυμίνη (ουρακίλη στο RNA). Η υψηλής επιλεκτικότητας σύνδεση μεταξύ δύο αλυσίδων DNA που δημιουργεί τον διπλό έλικα του DNA χρησιμοποιείται στους βιοαισθητήρες ως η αρχή της ανίχνευσης του βιολογικού δείγματος. Πιο συγκεκριμένα αναφέρεται στον υβριδισμό ενός μονόκλωνου DNA-ανιχνευτή με ένα μόριο DNA-στόχο που θα καταλήξει στην συγκεκριμένη ανίχνευση μιας γονιδιακής αλληλουχίας. Αυτή η αναγνώριση βασίζεται σε δεσμούς υδρογόνου και σε ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Αν και ο ακριβής μηχανισμός του βιοαισθητήρα γονιδίων ξεφεύγει από τα όρια της παρούσας εργασίας θα την αναφέρθει συνοπτικά καθώς παρουσιάζει μεγάλη αντιστοιχία με τις προαναφερθείσες τεχνικές καθώς και με αυτήν που θα υλοποιηθεί. Αρχικά ακινητοποιείται μια αλληλουχία 20-40 βάσεων ενός συνθετικού ολιγονουκλεοτιδίου (probe DNA) το οποίο μπορεί να ανιχνεύσει το στόχο (target DNA) αφού θα είναι συμπληρωματικό σε αυτό και συνεπώς μπορεί να δεθεί με αυτό και να σχηματίσει μια διπλή έλικα. Αφού το probe DNA εκτεθεί σε υλικό που διαθέτει ποσότητα με το

target DNA θα δημιουργηθεί η διπλή έλικα. Με τον ηλεκτροχημικό έλεγχο της διπλής έλικας θα παραχθεί σήμα το οποίο θα βοηθήσει να καθοριστεί η ύπαρξη η όχι του στόχου DNA σε περίπτωση αντιστοιχίας (Εικόνα 12). Διατάξεις genosensors έχουν αναπτυχθεί με σκοπό την ανίχνευση παθογόνων βακτηρίων όπως αυτό της *Escherichia coli* και του *Staphylococcus aureus* και ιών όπως ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) [45,46].



Εικόνα 12. Βασική αρχή λειτουργίας υβριδισμού DNA [46].

3.3.4 Βιοϋποδοχείς κυττάρων και μικροβιακοί αισθητήρες

Όταν το υπό εξέταση δείγμα είναι ένα ολόκληρο κύτταρο ή ολόκληρος κυτταρικός οργανισμός, όπως βακτήριο ή μύκητας, γίνεται λόγος για βιοϋποδοχείς κυττάρων. Η αρχή λειτουργίας των αισθητήρων που χρησιμοποιούν βιοϋποδοχείς κυττάρων βασίζεται στην διερεύνηση της μεταβολικής κατάστασης των κυττάρων μέσω της ανίχνευσης της κατανάλωσης του οξυγόνου ή του διοξειδίου του άνθρακα που μετριέται με ηλεκτροχημεία. Οι μικροβιακοί αισθητήρες βασίζουν την αρχή της μεθόδου τους σε αυτήν των ενζυμικών με τη διαφορά πως ολόκληρο το κύτταρο νοείται σαν μια «σακούλα» ενζύμων. Ο αναλύτης εισέρχεται στο κύτταρο και μετατρέπεται μέσω των ενδοκυτταρικών ενζύμων με αποτέλεσμα τα υποστρώματα να καταναλώνονται και η αντίδραση να παράγει προϊόντα που μπορεί να είναι ηλεκτροχημικά ενεργά. Τα επίπεδα του οξυγόνου και άλλες παράμετροι στο κύτταρο συνθέτουν την γενικότερη εικόνα της μεταβολικής του κατάστασης και συνεπώς της

ηλεκτροχημικής του ανίχνευσης. Η βασικότερη προϋπόθεση κατασκευής αξιόπιστου συστήματος ανίχνευσης συνίσταται στην σωστή τοποθέτηση του δείγματος πάνω στην επιφάνεια του αισθητήρα. Η επαναληψιμότητα και η ποιότητα της απόκρισης είναι συναρτήσεις της σωστής ακινητοποίησης του δείγματος. Οι μικροβιακοί αισθητήρες συγκεντρώνουν το ενδιαφέρον σε αρκετές εφαρμογές περιβάλλοντος και υγειονομικής επιτήρησης τροφίμων καθώς έχουν την ικανότητα να καταγράφουν βιολογικά αποτελέσματα με μεγάλη αμεσότητα και συνίστανται για την ανίχνευση ορμονών και παθογόνων [46].

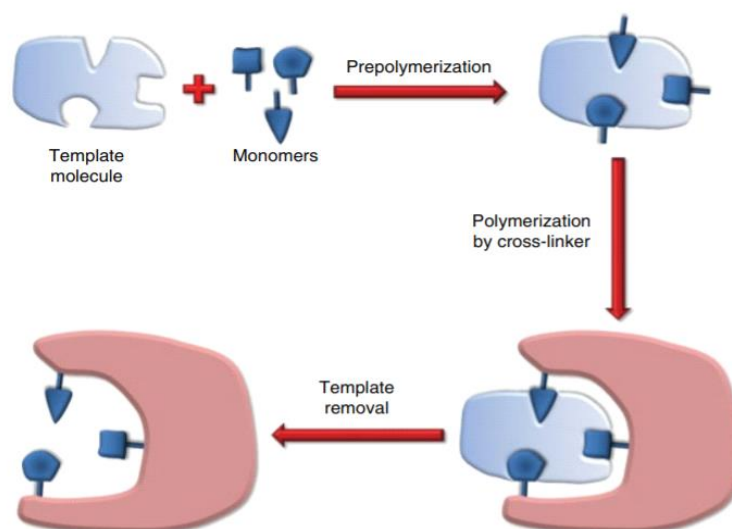
3.2.5 Τεχνητοί δέκτες- Βιομιμητές- MIPs

Τα πολυμερή είναι μακρομόρια που έχουν συντεθεί από μόρια μεγάλου μοριακού βάρους που ονομάζονται μονομερή μέσω της διαδικασίας του πολυμερισμού. Οι φυσικές και οι χημικές ιδιότητες των πολυμερών διαφέρουν από αυτές των συστατικών τους στοιχείων. Κατηγοριοποιούνται σε φυσικά και συνθετικά πολυμερή. Τα φυσικά μονομερή απαντώνται στην φύση στις πρωτεΐνες, στα νουκλεϊκά οξέα κ.α. Τα συνθετικά πολυμερή όπως το νάιλον συντίθενται από οργανικές ενώσεις και μέσω της επεξεργασίας τους στο εργαστήριο μπορεί να λάβουν διάφορες επιθυμητές ιδιότητες ανάλογες και κατάλληλες για την εκάστοτε εργασία ή λειτουργία. Λόγω της μεγάλης ελαστικότητας που παρέχει η επεξεργασία και η σύνθεσή τους στην σύγχρονη εποχή βρίσκονται στο προσκήνιο σε μια μεγάλη πληθώρα εφαρμογών.

Όπως έγινε εμφανές και με τα παραπάνω τα ένζυμα, τα αντισώματα και οι νουκλεϊκές αλυσίδες είναι φυσικοί υποδοχείς με μεγάλο βαθμό συγγένειας (affinity) και επιλεκτικότητας. Με την εμφάνιση των πολυμερών ανέκυψε και η προσπάθεια δημιουργίας τεχνητών δεκτών που θα επιτελούν τις λειτουργίες των παραπάνω σύμφωνα με το πρότυπο κλειδί-κλειδαριά. Αυτό το πεδίο έρευνας εντάσσεται στο ευρύτερο πεδίο της βιομιμητικής. Αν και οι φυσικοί υποδοχείς παρουσιάζουν υψηλή επιλεκτικότητα και συγγένεια, συνδέονται συχνά με συγκεκριμένους περιορισμούς όπως αυτοί που προκύπτουν λόγω της μηχανικής και φυσικής αστάθειας και λόγω του μεγάλου κόστους στην διαδικασία απομόνωσής τους [45,46].

Τα μοριακά αποτυπωμένα πολυμερή (molecularly imprinted polymers-MIPs) είναι συνθετικά υλικά που αποτελούν προϊόντα της διαδικασίας πολυμερισμού

λειτουργικών μονομερών με διαμεσολαβητών, παρουσία ενός μορίου που επιτελεί την λειτουργία επιφάνειας ή «καλουπιού». Με την αφαίρεση του τελευταίου μορίου δημιουργείται μια κοιλότητα η οποία προσομοιάζει τα φυσικά χαρακτηριστικά του καλουπιού, όπως το σχήμα και το μέγεθος του. Συνεπώς, θα προκύψει ένα πολυμερές με τις ιδιότητες που απαιτούνται ώστε να μπορεί να δέσει σαν κλειδί σε κλειδαριά με το προς ανίχνευση δείγμα και ταυτόχρονα να διαθέτει μεγάλη ανεκτικότητα και ευρωστία σε διαφορετικά περιβάλλοντα [50]. Η διαδικασία σύνθεσης τους φαίνεται στην παρακάτω σχηματική αναπαράσταση:



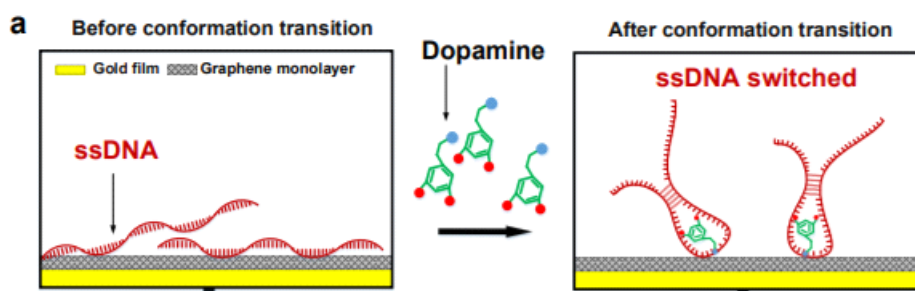
Εικόνα 13. Διαδικασία σύνθεσης MIP [50].

Στην παραπάνω τεχνική μπορεί να ωφελήσει και η χρήση της υπολογιστικής μοντελοποίησης. Μέσω της μοριακής μοντελοποίησης παρέχονται πληροφορίες που είναι απαραίτητες για την αποτύπωση των μοριακών πολυμερών, όπως οι βαθμοί των αντιδράσεων συγγένειας ανάμεσα στους συνθετικούς δέκτες και τους στόχους, δηλαδή οι δεσμοί υδρογόνου, οι αλληλεπιδράσεις Van der Waals και οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις και η δομή του στόχου.

3.2.6 Αισθητήρες βασισμένοι σε απταμερή

Τα απταμερή είναι ολιγονουκλεϊοτίδια (DNA, RNA) ή πεπτιδικά μόρια που συνδέονται με διαφορετικούς στόχους όπως οι πρωτεΐνες, κάποια κύτταρα ή φάρμακα και άλλα πεπτίδια. Η σύνδεση αυτή, συνήθως, συνοδεύεται από

μορφολογικές μεταβολές στο απταμερές. Μια τέτοια μεταβολή μπορεί να είναι π.χ. η περιτύλιξη ενός μορίου γύρω από ένα άλλο μικρότερο. Λογώ αυτής της ιδιαιτερότητας τα απταμερή είναι ιδανικοί υποψήφιοι σαν στοιχεία ανίχνευσης σε εφαρμογές βιοαισθητήρων [50]. Οι βιοαισθητήρες που τα χρησιμοποιούν καλούνται aptasensors. Τα κλασσικά και διαδεδομένα μόρια ανίχνευσης μειονεκτούν σε σχέση με τα απταμερή εφόσον για τα τελευταία δεν απαιτείται η ανάπτυξη σε ζωικό ξενιστή ενώ και η επιλεκτικότητά τους βρίσκεται σε υψηλότερα επίπεδα για τα πεπτίδια, τις πρωτεΐνες ακόμα και για ολόκληρα κύτταρα. Επιπλέον, επειδή αποτελούν συχνά προϊόντα σύνθεσης σε εργαστήριο εμφανίζουν μεγαλύτερη σταθερότητα όπως αυτή των MIPs και συνεπώς έχουν λάβει το προσωνύμιο «χημικά αντισώματα» [45]. Η επόμενη εικόνα απεικονίζει την αρχή λειτουργίας ενός αισθητήρα απταμερούς για την ανίχνευση της ντοπαμίνης (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Αισθητήρας βασισμένος σε απταμερή για την ανίχνευση ντοπαμίνης [51].

3.2.7 Πεπτιδικοί βιοαισθητήρες

Τα πεπτίδια είναι φυσικά ή συνθετικά πολυμερή αμινοξέων και κατασκευάζονται από τις ίδιες οικοδομικές μονάδες με τις πρωτεΐνες με συνέπεια να παρουσιάζουν παρόμοιες ιδιότητες σε σχέση με την επιλεκτικότητα και την ακρίβεια με την οποία συνδέονται σε κάποιο στόχο. Τα μικρότερα πεπτίδια, ωστόσο, έχουν κάποια πλεονεκτήματα σε σχέση με τις πρωτεΐνες εφόσον δεν είναι τόσο επιρρεπή σε φαινόμενα όπως ο εκφυλισμός (denaturing) και διαθέτουν μεγαλύτερη χημική και μορφολογική σταθερότητα. Έχουν αναπτυχθεί διάφοροι πεπτιδικοί βιοαισθητήρες για την ανίχνευση και την ανάλυση των πρωτεϊνών οι οποίες αποτελούν ειδικά ένζυμα που σπάνε τους πεπτιδικούς δεσμούς των πρωτεϊνών και για αυτόν τον λόγο συνδέονται συχνά με την εμφάνιση νόσων και καρκινικών όγκων [50].

3.2.8 Βιοαισθητήρες βασισμένοι σε GPCR

Οι υποδοχείς συζευγμένοι με πρωτεΐνη G (G-Protein Coupled Receptors) αποτελούν μέρος μια εκτενούς πρωτεϊνικής οικογένειας υποδοχέων που είναι ικανοί να ανιχνεύουν μόρια που βρίσκονται στο εξωτερικό του κυττάρου και οι λεπτομέρειές τους έχουν αναλυθεί στο προηγούμενο κεφάλαιο.

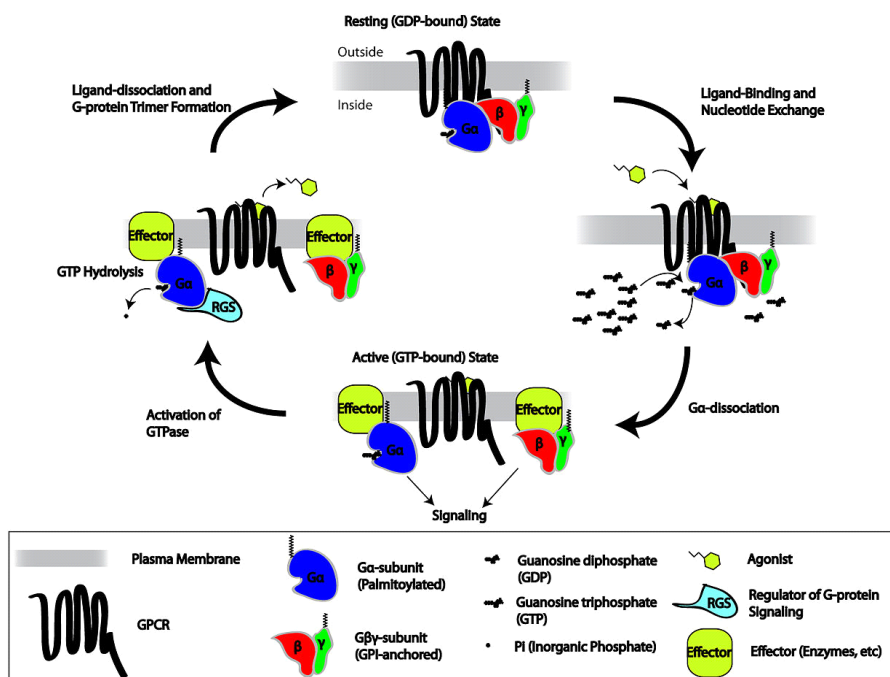
Οι αισθητήρες βασισμένοι σε GPCR αναπτύχθηκαν λόγω της ανάγκης για τη μεγαλύτερη κατανόηση των λειτουργιών των νευροδιαβιβαστών. Οι παραδοσιακές τεχνικές όπως η μικροδιάλυση, η ηλεκτροχημική καταγραφή και η ηλεκτροφυσιολογία δεν είναι πλέον επαρκείς αφού αποτελούν επεμβατικές μεθόδους με αρκετούς περιορισμούς όσον αφορά την χωρητική ανάλυση. Συνεπώς υπάρχει τάση για ανάπτυξη αισθητήρων GPCR που θα χαρακτηρίζονται από μεγάλο βαθμό συγγένειας-σύνδεσης με τον στόχο, υψηλή μοριακή επιλεκτικότητα, χρονική ανάλυση της τάξεως των millisecond και χωρητική ανάλυση σε υποκυτταρικά επίπεδα. Τα πλεονεκτήματα των GPCR εμφανίζονται στην υψηλή επιλεκτικότητά τους όσον αφορά τους νευροδιαβιβαστές αφού μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν ιδανικά προσδέματα σε τέτοιου τύπου εφαρμογές. Επιπροσθέτως παρότι διαφορετικοί GPCR μπορούν να ανιχνεύσουν την ίδια νευροχημική ουσία, όπως στην περίπτωση της σεροτονίνης με τους πολλαπλούς υπότυπους των φυσικών υποδοχέων, η κάθε σύνδεση χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένο συνδυασμό όσον αφορά τις ιδιότητες της σύνδεσης και της επιλεκτικότητας -όπως έχει αναφερθεί και στο προηγούμενο κεφάλαιο διαφορετικοί υπότυποι σεροτονίνης εκφράζουν διαφορετικά επίπεδα επιλεκτικότητας - αλλά ακόμα και από συγκεκριμένες ιδιότητες στην απόκριση του ηλεκτρικού σήματος. Αυτή η ελαστικότητα και η ποικιλομορφία των GPCR που υπάρχει διαθέσιμη εκ του φυσικού, δίνει την δυνατότητα για ένα μεγάλο εύρος εφαρμογών. Οι GPCR χρησιμοποιούνται σήμερα για την μέτρηση της *in vivo* κινηματικής διαφορετικών νευροχημικών ουσιών. Ενδεικτικά αναφέρονται κάποιες όπως η ακετυλοχολίνη, η ντοπαμίνη και η νορεπινεφρίνη. Σε συνδυασμό με προχωρημένες τεχνικές απεικόνισης, οι GPCR αισθητήρες δίνουν την δυνατότητα για καταγραφές μακροπρόθεσμης διάρκειας με δυνατότητα ρύθμισης της κλίμακας. Το τελευταίο προκύπτει λόγω της γενετικά κωδικοποιημένης φύσης των GPCR αισθητήρων που έχουν αναπτυχθεί μέσω της γενετικής τροποποίησης. Όσον αφορά

την χρονική ανάλυση, οι μορφολογικές μεταβολές λόγω της σύνδεσης του προσδέματος και της ενεργοποίησης του υποδοχέα συμβαίνουν σε διαστήματα των milliseconds. Αυτή η υψηλή χρονική ανάλυση είναι επαρκής για να αναδείξει τις περισσότερες ιδιότητες ενός νευροδιαβιβαστή σε κατάσταση *in vivo*. Τα μειονεκτήματα των GPCR αισθητήρων εμφανίζονται σε σχέση με την ειδική μορφολογία της σύνδεσης και της κίνησης του GPCR αφού δημιουργούνται φαινόμενα αναδίπλωσης της μεμβράνης κ.α. Για αυτό τον λόγο είναι σπουδαίας σημασίας γεγονός το να επιτευχθεί η σωστή τοπολογία στη μεμβράνη και η μετακίνησή τους στο σημείο πρόσδεσης με την επιφάνεια του κυττάρου. Επιπλέον υπάρχει το ενδεχόμενο να εμφανιστούν μορφοποιήσεις λιπιδίων ή μέσω της φωσφορυλίωσης να προστίθενται περισσότερες φωσφορικές ομάδες πάνω στο μόριο και συνεπώς να καταλήξουν να υπάρχουν αρκετές αποκλίσεις στις μετρούμενες ιδιότητες σε σχέση με τις αναμενόμενες. Τέλος η σύνδεση GPCR με τον στόχο ενδέχεται να έχει ως έκβαση- λόγω και της θεμελίωσης της μεθόδου- την μεταβολή της κυτταρικής φυσιολογίας. Η θεμελίωση αυτή συνοψίζεται παρακάτω.

Κάθε GPCR έχει διαφορετικές καταστάσεις μορφολογίας συμπεριλαμβανομένων της ανενεργής, της μερικώς ενεργής και της πλήρως ενεργής κατάστασης. Οι μορφολογικές αυτές μεταβολές εμφανίζονται στους έλικες υπ' αριθμόν 5 και 6 της διάταξης. Η σύνδεση με το πρόσδεμα μέσω της αλληλεπίδρασης με την G-πρωτεΐνη σταθεροποιεί την πρωτεΐνη στην ενεργή μορφολογία με συνέπεια την παραγωγή σήματος (Εικόνα 15).

Η ευαισθησία του GPCR αισθητήρα ορίζεται κατά αναλογία με δύο παραμέτρους. Η πρώτη παράμετρος αφορά το δυναμικό εύρος της απόκρισης του φθορισμού και η δεύτερη την ικανότητα πρόσδεσης του υποδοχέα με υψηλό βαθμό συγγένειας. Όσον αφορά τον φθορισμό, οι σύγχρονοι αισθητήρες GPCR επιτυγχάνουν πάνω από 90% μεταβολή στην απόκριση του φθορισμού ($\Delta F/F_0$) και συγκριτικά χαμηλό SNR σε σχέση με τις τυπικές ηλεκτροφυσιολογικές μεθόδους καταγραφής και έτσι διακρίνονται από επαρκή επιλεκτικότητα για τη δυναμική των νευροχημικών ώσεων. Η συγγένεια με το πρόσδεμα στους GPCR αισθητήρες δεν εκφυλίζεται με τη σύνδεση στους περισσότερους στόχους και έτσι εμφανίζουν ικανοποιητική ανίχνευση των φυσιολογικών συγκεντρώσεων των νευροχημικών.

Η επιλεκτικότητα του GPCR αισθητήρα είναι ανάλογη αυτής του υποδοχέα που χρησιμοποιείται ανά εφαρμογή. Οι GPCR αισθητήρες διατηρούν την υψηλή επιλεκτικότητα των προσδεμάτων τους καθώς τα μόρια καταγραφής βρίσκονται κυρίως σε ενδοκυτταρικές περιοχές και αποφεύγεται έτσι η διάδραση με τα εξωκυτταρικά προσδέματα. Ο αισθητήρας για τον προσδιορισμό της ακετυλοχολίνης που χρησιμοποιεί σαν πρόσδεμα έναν φυσικό υποδοχέα της ακετυλοχολίνης, επιδεικνύει εύρωστη απόκριση σε αυτήν και παράλληλα αγνοεί την νικοτίνη και άλλους νευροδιαβιβαστές. Επιπλέον, οι αισθητήρες GPCR έχουν μεγάλη διακριτική ικανότητα ακόμα και για δομικά όμοιες ουσίες όπως για την κατηγορία των κατεχολαμίνων στην οποία ανήκουν η ντοπαμίνη και η νορεπινεφρίνη αφού οι ειδικοί αισθητήρες ντοπαμίνης δένονται με αυτήν σε βαθμό 10 με 30 φορές μεγαλύτερης επιλεκτικότητας. Αυτή η επιλεκτικότητα μπορεί να βελτιωθεί ακόμα περισσότερο με την χρήση των ιδανικών υπότυπων υποδοχέων. Μια συνέπεια των παραπάνω είναι η ικανότητα για ταυτόχρονη μέτρηση διαφορετικών ουσιών. Όπως θα αποδειχθεί και παρακάτω, υπάρχουν αρκετές αναφορές στη βιβλιογραφία για ταυτόχρονη μέτρηση σεροτονίνης και ντοπαμίνης [52].



Εικόνα 15. Κύκλος ενεργοποίησης/απενεργοποίησης της GPCR-G πρωτεΐνης [53].

Η βελτιστοποίηση των αισθητήρων GPCR μπορεί να επιτευχθεί με την αύξηση του δυναμικού τους εύρους, με την ρύθμιση της συγγένειας του προσδέματος και με τον έλεγχο της απόκρισης. Η κρυσταλλική δομή των GPCR μπορεί να δώσει καίριας σημασίας πληροφορίες αναφορικά με τα κατάλοιπα που προσδιορίζουν τη σύνδεση του προσδέματος και τις μορφολογικές μεταβολές. Συνεπώς με αυτές τις πληροφορίες γίνεται να διευκολυνθεί η ανάπτυξη των αισθητήρων και η συνολική τους απόδοση.

Η οπτογενετική είναι μια τεχνική που χρησιμοποιεί το φως για τον έλεγχο γενετικά τροποποιημένων νευρώνων με σκοπό να εκφραστούν ευαίσθητα στο φως κανάλια ιόντων. Η χημειογενετική δίνει την δυνατότητα για την ενεργοποίηση ή αδρανοποίηση συγκεκριμένων κυττάρων ανάλογα με την βούληση του ερευνητή με σκοπό να διερευνηθούν οι νευρικές ώσεις σε βάθος χρόνου μεγαλύτερου από αυτό της οπτογενετικής που αποτελεί στιγμιότυπο μιας κατάστασης. Οι παραπάνω δύο αυτές τεχνικές μπορούν να συνδυαστούν με την τεχνολογία των αισθητήρων GPCR για να διερευνηθούν σε βάθος οι νευρορυθμιστικές ιδιότητες των νευροδιαβιβαστών σε ένα γενικευμένο σύστημα παρακολούθησης. Μέσω αυτού του συνδυασμού είναι εφικτή και η περαιτέρω διάκριση των λειτουργικής φύσης των διαφορετικών νευρώνων και νευρικών υποδοχέων. Όπως έχει γίνει σαφές από το προηγούμενο κεφάλαιο, η ακριβής αποσαφήνιση της κάθε λειτουργίας των σεροτονικών υποδοχέων δεν έχει ερευνηθεί σε ένα αρκετά ικανοποιητικό επίπεδο με αποτέλεσμα να υπάρχουν μεγάλες επικαλύψεις όσον αφορά τις λειτουργίες των οποίων η αποκλειστική αιτιότητα -όταν αυτή υπάρχει και δεν είναι αποτέλεσμα συνδυαστικών δράσεων- αποτελεί προϊόν σύγχυσης. Επί παραδείγματι, με την χρήση των παραπάνω τεχνικών μπορούν να εξαχθούν πληροφορίες για την αναλυτικότερη περιγραφή της αιτιότητας κάθε υποδοχέα σεροτονίνης με τα αντίστοιχα σε αυτόν αποτελέσματα στην ψυχική υγεία. Σαφέστατα, με την χρήση υπολογιστικών μεθόδων η παραπάνω επεξεργασία θα εγείρει αντίστοιχα κάποια σαφέστερα συμπεράσματα. Σε κάθε περίπτωση, η πολυπλοκότητα της εγκεφαλικής λειτουργίας απαιτεί την σύμπραξη πολλών πεδίων της επιστήμης και τον κατά το δυνατό αρμονικότερο και αποδοτικότερο συνδυασμό πολλαπλών τεχνικών [52].

3.3 Μοριακή αναγνώριση

Η μοριακή αναγνώριση ενός στόχου βρίσκεται στον πυρήνα της θεωρητικής θεμελίωσης της αρχής λειτουργίας ενός βιοαισθητήρα. Από την επιτυχή ανίχνευση εξαρτάται η σωστή λειτουργία του αισθητήρα. Το φαινόμενο χαρακτηρίζεται από την ικανότητα ενός μορίου να δένεται με ένα άλλο μέσω αλληλεπιδράσεων δεσμών και μοριακής γεωμετρίας. Το στοιχείο στόχος και το στοιχείο ξενιστή βρίσκονται σε συμπληρωματική σχέση όσο αφορά την μοριακή τους γεωμετρία. Αυτή η σχέση απαντάται στα βιολογικά συστήματα μεταξύ των υποδοχέων και των προσδεμάτων, των αντιγόνων και των αντισωμάτων, του DNA και των πρωτεϊνών κ.α. Η σύνδεση των παραπάνω έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μια ανιχνεύσιμης από ένα όργανο μέτρησης μεταβολής που θα επέλθει από την μεταβολή των φυσικών χαρακτηριστικών (Εικόνα 16).

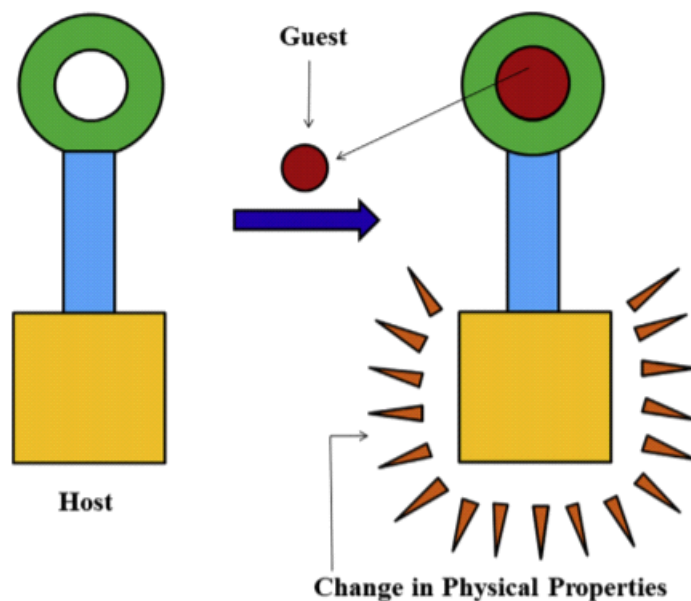
Παρακάτω παρατίθενται συνοπτικά οι δεσμοί που δημιουργούνται μεταξύ των μορίων ανίχνευσης και στόχου στη διαδικασία της μοριακής ανίχνευσης.

-Ομοιοπολικοί δεσμοί

Οι ομοιοπολικοί δεσμοί παρέχουν υψηλή κινητική μεταβλητότητα και αντιστρεψιμότητα. Μια μοριακή ανίχνευση ακολουθείται από την δημιουργία ενός αντιστρέψιμου ομοιοπολικού δεσμού μεταξύ των δυο μορίων.

-Δεσμοί υδρογόνων

Ο δεσμός υδρογόνου μεταξύ μιας πρωτεΐνης και ενός πρωτεϊνικού ή νουκλεϊκού προσδέματος μπορεί να αποδώσει πληροφορίες για την αλληλεπίδραση που θεμελιωδώς αποτελεί τον πυρήνα της μοριακής ανίχνευσης. Αν και 100 φορές λιγότερο ισχυρός από τον ομοιοπολικό έχει μεγάλη σταθερότητα. Αυτό συμβαίνει λόγω του δεσμού-H που μεταφέρει την ακαμψία του στην υπόλοιπη δομή. Η επιλεκτικότητα προκύπτει λόγω της συμπληρωματικότητας των διαφόρων ομάδων δεσμών υδρογόνου [45,46].



Εικόνα 16. Αλλαγή στα φυσικά χαρακτηριστικά μετά την μοριακή σύνδεση [45].

3.4 Ακίνητοποίηση βιομορίων

Η ακίνητοποίηση βιομορίων είναι η διαδικασία με την οποία ένα βιολογικό μόριο συνδέεται σε ένα υπόστρωμα. Στους βιοαισθητήρες είναι απαραίτητη τεχνική για την δημιουργία ενός υποστρώματος το οποίο θα έχει πολλά τέτοια βιομόρια εναποτιθέμενα στην επιφάνειά του με σκοπό να επιτελούν την λειτουργία ανίχνευσης του μορίου στόχου. Η μέθοδος δεν περιορίζεται στον τομέα των βιοαισθητήρων, καθώς εφαρμόζεται σε ποικίλους κλάδους από την βιοτεχνολογία μέχρι την βιοϊατρική οι οποίοι απαιτούν την δημιουργία βιοαναλυτικών διατάξεων για την βιολογική έρευνα και τους διαγνωστικούς ελέγχους. Οι τρεις κύριες παράμετροι που ορίζουν την αποδοτικότητα της τεχνικής είναι η επιλεκτικότητα, η ευαισθησία και η διάρκεια ζωής.

Η ακίνητοποίηση αυτή καθαυτή ιδανικά θα πρέπει να χαρακτηρίζεται από απλότητα, να υλοποιείται σε ένα μικρό αριθμό βημάτων χωρίς ιδιαίτερη προετοιμασία των επιφανειών και των δειγμάτων και του χώρου στον οποίο θα αναπτύσσεται η διάταξη προς αποφυγήν κόστους που θα είναι απαγορευτικό για την ευρεία διάδοση των αισθητήριων διατάξεων ειδικά σε τομείς όπως αυτός της υγείας. Προφανέστατα, σε εξειδικευμένες εφαρμογές το κόστος δεν αποτελεί τον πρωταρχικό παράγοντα αλλά αναδεικνύεται ως καίριας σημασίας παράμετρος

γενικότερα στην ιατρική εφόσον η επιστήμη αυτή καλείται να είναι όσο το δυνατόν αμερόληπτη απέναντι στους ασθενείς.

Ακόμη είναι επιθυμητό οι ουσίες που ακινητοποιούνται να διατηρούν τις στοιχειώδεις ιδιότητές τους. Βεβαίως, όπως έχει αναφερθεί η σύνδεση θα δημιουργήσει και καινούριες ιδιότητες όσον αφορά κυρίως την μορφολογία αλλά η επίστρωση που θα ακινητοποιεί την ουσία ανιχνευτή πρέπει να είναι όσο το δυνατό ουδέτερη για την μέτρηση. Έτσι είναι σημαντικό, αυτές οι μεταβολές να μην επιφέρουν δομικές αλλαγές που είναι επικίνδυνο να απενεργοποιήσουν το βιομόριο ανιχνευτή κατά οποιοδήποτε ποσοστό. Επιπροσθέτως, θα πρέπει να αποκλείεται το ενδεχόμενο το μόριο να ακινητοποιηθεί με λανθασμένο χωρικό προσανατολισμό καθώς το ενεργό κέντρο του μπορεί να έχει βυθιστεί μέσα στην επίστρωση του υλικού επικάλυψης και τα βιομόρια στόχοι να μην μπορούν να δεσμευτούν μαζί του.

3.4.1 Τεχνικές ακινητοποίησης

Η αποδοτικότητα ενός βιοαισθητήρα έγκειται στην επιλογή κατάλληλου υλικού επίστρωσης για την επιφάνεια της ακινητοποίησης των βιομορίων. Απαιτείται η σύνδεση και η σταθεροποίηση του υλικού κατά τέτοιο τρόπο ώστε να διατηρούνται οι φυσικοχημικές και καταλυτικές του ιδιότητες και η διάταξη βιομορίων και επιφάνειας επικάλυψης να βρίσκεται σε μεγάλη εγγύτητα μεταξύ των δύο.

Η ακινητοποίηση στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου γίνεται είτε φυσικά ή χημικά και όπως παρατίθεται και παραπάνω με ομοιοπολικούς δεσμούς ή μη ομοιοπολικούς, όπως αυτοί του δεσμού υδρογόνου. Οι σημαντικότεροι τρόποι ακινητοποίησης είναι η προσρόφηση, η παγίδευση, η ομοιοπολική δέσμευση, η μικροενθυλάκωση, ο εγκλωβισμός, η διαμοριακή σύνδεση και η δημιουργία αυτοσυγκροτούμενων μονομοριακών στοιβάδων (self-assembled monolayer, SAM). Είναι σημαντικό για κάθε βιομόριο να επιλέγεται ένας κατάλληλος τρόπος ακινητοποίησής του που να ικανοποιεί τις προδιαγραφές της εκάστοτε εφαρμογής.

-Η προσρόφηση (adsorption) προϋποθέτει την ύπαρξη αγχιστείας των υλικών του ηλεκτροδίου και του βιομορίου. Το βιομόριο εφόσον εναποτεθεί πάνω στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου θα κολλήσει σε αυτήν απευθείας, είτε μέσω ενός άλλου υλικού που θα λειτουργεί σαν βοηθητικό. Εάν η προσρόφηση γίνεται μέσω χημικών

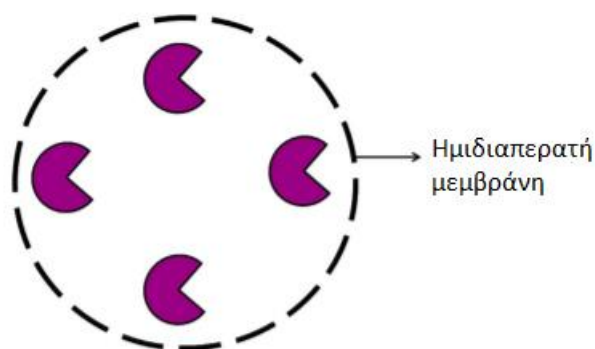
δεσμών, γίνεται λόγος για χημειορρόφηση, ενώ αν γίνεται μέσω van der Waals αλληλεπιδράσεων, δεσμών υδρογόνου ή υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων, γίνεται λόγος για φυσιορρόφηση. Η τεχνική αυτή χαρακτηρίζεται από ασθενής δέσμευση και ευμεταβλητότητα από τις αλλαγές του περιβάλλοντος.

-Η παγίδευση (entrapment) υλοποιείται με την εναπόθεση ενός λεπτού φιλμ βιομορίων πάνω στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου μέσω ενός δικτύου πολυμερικού υλικού όπως η οξική κυτταρίνη, το κολλαγόνο και το Teflon. Το πολυμερές αυτό δεν επηρεάζει τη διαπερατότητα της δεσμευμένης ουσίας από την επικάλυψη. Το πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ο περιορισμός της επιμόλυνσης των μορίων γενικά, αλλά και από άλλες πρωτεΐνες ή ένζυμα, η φτηνή και γρήγορη ακινητοποίηση καθώς και οι ουδέτερες συνθήκες που χρειάζονται για την αντίδραση. Η μέθοδος παρουσιάζει χαμηλή σταθερότητα.

-Η ομοιοπολική δέσμευση (covalent bonding) περιλαμβάνει την δημιουργία ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ της επίστρωσης και των βιομορίων. Αποτελεί μία από τις πιο κοινές μεθόδους. Η δέσμευση σε αυτήν την περίπτωση είναι μη αντιστρεπτή. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου εμφανίζονται λόγω της σταθερής φύσης των δεσμών μεταξύ του μορίου και του δικτύου και λόγω της ευκολίας να ακινητοποιεί μόρια με ελεγχόμενο προσανατολισμό. Στην περίπτωση των ενζύμων, για τη δημιουργία ισχυρού δεσμού μεταξύ του μορίου και της επίστρωσης απαιτείται τα κατάλοιπα των αμινοξέων που απαιτούνται για την καταλυτική δραστηριότητα να μην εμπλέκονται στην ομοιοπολική σύνδεση. Αυτός ο περιορισμός σε συνδυασμό με τη χαμηλή μηχανική σταθερότητα συνθέτουν τα μειονεκτήματα της τεχνικής.

- Η μικροενθυλάκωση (microencapsulation) περιγράφει την ενθυλάκωση ενός βιομορίου μέσα σε μία σφαίρα πολύ μικρού μεγέθους (ονομαστική διάμετρος 1mm μέχρι κάποια μικρόμετρα) (Εικόνα 17). Οι σφαίρες αυτές μπορούν να αναπτυχθούν από πολυμερικά ή μη υλικά όπως είναι η πολυαιθυλενική γλυκόλη, οι πολυστερήνες, το κολλαγόνο κ.λπ. και μπορούν να παγιδεύουν διάφορα ένζυμα, βιταμίνες, φάρμακα, καταλύτες κ.α. Οι σφαίρες αποδεσμεύουν τις ουσίες που έχουν παγιδεύσει όταν απαιτείται. Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου αποτελεί το πολύ μεγάλο πρακτικό ενεργό επιφανειακό εμβαδόν που αγγίζει αυτό των 60 m² για μια διάταξη με κενές μικροκάψουλες με επιφάνεια 1mm και διάμετρο 0.1mm. Αυτή η επιφάνεια

διατίθεται για τις διεργασίες της προσρόφησης, της εκρόφησης, της διάχυσης, του φωτός κ.λπ.



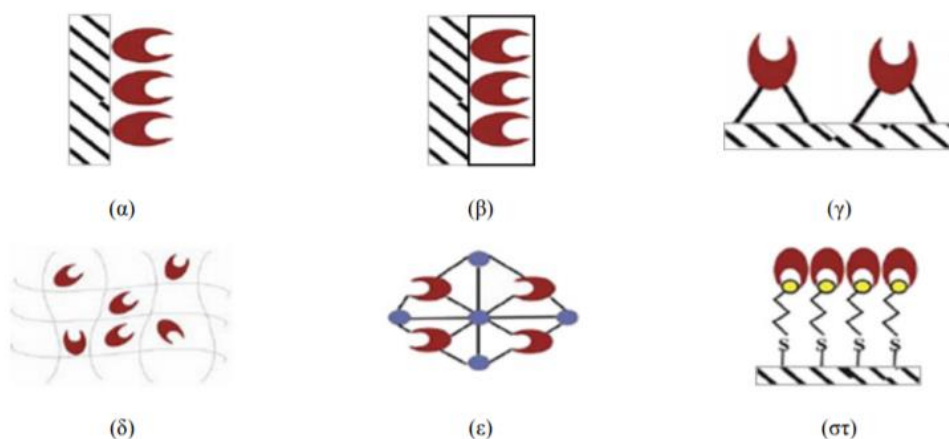
Εικόνα 17. Ακινητοποίηση ενζύμων με μικροενθυλάκωση [45].

- Ο εγκλωβισμός (embedding) περιλαμβάνει την χρήση πολυμερών για την δημιουργία ενός δικτύου που θα προσομοιάζει την μορφολογία ενός δικτύου πάνω στο οποίο θα εγκλωβίζονται τα βιομόρια. Τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται είναι το πολυακρυδονιτρίλιο, οι πυριτικές πηκτές και κάποια αγώγιμα πολυμερή για την ταχύτερη μεταφορά ηλεκτρονίων. Μειονεκτεί λόγω του μεγάλου χρόνου απόκρισης που προκύπτει εξαιτίας της αργής διάχυσης του υποστρώματος στο πολυμερές.

-Η διαμοριακή σύνδεση (cross-link binding) αφορά την σύνδεση με την βοήθεια διαδραστικών αντιδραστηρίων. Η σύνδεση αυτή μπορεί να γίνεται μεταξύ των βιομορίων αλλά και μεταξύ άλλων μη δραστικών βιομορίων όπως φαίνεται στο σχήμα. Οι δεσμοί που δημιουργούνται αποκαλούνται διαμοριακοί δεσμοί. Έχει σημαντικό μειονέκτημα την απώλεια της ενεργότητας του βιομορίου που προκύπτει από την χρήση χημικών αντιδραστηρίων και οργανικών διαλυτών.

-Η σύνδεση με αυτοσυγκροτούμενα μονομοριακά στρώματα (self assembled monolayers) λαμβάνει χώρα μέσω της σύνθεσης οργανωμένων μακρομοριακών δομών από άλλα μικρότερα μόρια. Τα SAMs δημιουργούνται μέσω της χημειορρόφησης των βιομορίων πάνω στο υπόστρωμα με συγκεκριμένη διάταξη ώστε μια ομάδα βιομορίων να έχει συγκεκριμένο προσανατολισμό ώστε οι κεφαλές των μορίων να βρίσκονται κοντά στο υπόστρωμα και μεταξύ τους και οι ουρές των βιομορίων να βρίσκονται παράλληλα, ώστε τα λειτουργικά τους μέρη να βρίσκονται

και αυτά σε μεγάλη εγγύτητα μεταξύ των γειτονικών βιομορίων. Οι δεσμοί που σχηματίζονται είναι ασθενείς και η διαδικασία ελέγχεται θερμοδυναμικά [45,46].



Εικόνα 18. Μέθοδοι ακινητοποίησης βιομορίων στους βιοαισθητήρες. (α) προσρόφηση (β) παγίδευση (γ) ομοιοπολική δέσμευση (δ) εγκλωβισμό (ε) διαμοριακή σύνδεση (στ) δημιουργία SAMs [46].

3.5 Υποστρώματα

Η επιλογή του υποστρώματος επηρεάζει την απόδοση του αισθητήρα οπότε είναι σημαντικό να επιλέγεται το κατάλληλο υπόστρωμα για κάθε διαφορετική εφαρμογή. Αρχικά απαιτείται η επιλογή της σκληρότητας και του πάχους του υποστρώματος. Έπειτα, η επιλογή γίνεται ανάμεσα στα εξής κοινά υποστρώματα:

Karton: Είναι φιλμ πολυιμιδίου με την ιδιότητα να παραμένει σε σταθερή κατάσταση σε ένα μεγάλο εύρος θερμοκρασιών. Χρησιμοποιούνται σε μια τεράστια ποικιλία εφαρμογών στο πεδίο των τυπωμένων κυκλωμάτων και συνεπώς τα χαρακτηριστικά τους έχουν προσδιοριστεί επακριβώς ενώ η αποδοτικότητά τους έχει δοκιμαστεί εκτενώς. Η διαδικασία παραγωγής του είναι αρκετά αναπτυγμένη. Λόγω της υδρόφιλης φύσης του είναι κατάλληλο για εφαρμογές ανάπτυξης αισθητήρων υγρασίας αλλά ακατάλληλο για έρευνες διηλεκτρομετρίας.

Teflon: Το πολυτετραφθοροαιθυλένιο (PTFE) με την εμπορική ονομασία τεφλόν επιδεικνύει εξαιρετικές μονωτικές και υδροφοβικές ιδιότητες οι οποίες του δίνουν την δυνατότητα να αποφεύγει τα προβλήματα που δημιουργούνται στα αντίστοιχα Karton υποστρώματα. Επιπροσθέτως, παρουσιάζει πολύ καλή αντοχή σε πολύ

χαμηλές θερμοκρασίες. Ένας συνδυασμός των δύο παραπάνω αναφερόμενων υλικών φαίνεται να παρακάμπτει τα ελαττώματα που αναφέρθηκαν.

Αγωγή πολυμερή: Τα πολυμερή είναι χημικές ενώσεις που αποτελούνται από έναν συνδυασμό των μονομερών που προκύπτει μέσω της χημικής αντίδρασης του πολυμερισμού. Απαντώνται στην φύση ή συντίθενται σε εργαστήρια και συνεπώς διαχωρίζονται σε φυσικά και συνθετικά πολυμερή αντίστοιχα. Μια υποκατηγορία αυτών που ανακαλύφθηκε σχετικά πρόσφατα, τα αγωγή πολυμερή, εστιάζουν το ενδιαφέρον της εργαστηριακής κοινότητας λόγω των εύκολα ρυθμιζόμενων χαρακτηριστικών τους.

Άλλα υλικά που παραδοσιακά χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές αισθητήριων διατάξεων σαν υποστρώματα είναι οξειδία και νιτρίδια πυριτίου και κάποια υποστρώματα από διάφορους τύπους γυαλιού [54].

3.6 Επικαλύψεις

Η επικάλυψη του αισθητήρα πρέπει να επιλέγεται λαμβάνοντας υπόψιν τις ιδιότητες του προσδέματος που απαιτείται να ακινητοποιηθεί αλλά και τις διηλεκτρικές ιδιότητες του υλικού καθώς αυτό μπορεί να μεταβάλλει τα προς μέτρηση μεγέθη. Αν και προφανώς, οι επιστρώσεις που χρησιμοποιούνται ποικίλουν ανάλογα με την εφαρμογή αναφέρεται επιγραμματικά κάποιες κοινές όπως το πολυμερές παρυλένιο με πλεονεκτικά χαρακτηριστικά όπως σταθερότητα σε θερμοκρασίες από 100 μέχρι 200, χαμηλή διαπερατότητα στην υγρασία και σε άλλες διαβρωτικές ουσίες κ.λπ. και η κοινή υδρογέλη που χρησιμοποιείται σε ολοένα και περισσότερες ιατρικές και χημικές εφαρμογές λόγω της υδρόφιλης φύσης της [54].

3.7 Interdigitated πυκνωτής

Οι πυκνωτές αποτελούν διατάξεις γειτονικών αγωγών που παρεμβάλλονται από ένα διηλεκτρικό μέσο. Οι αγωγοί αυτοί είναι φορτισμένοι με αντίθετα φορτία τιμής Q και ονομάζονται οπλισμοί. Η διάταξη χρησιμεύει για την αποθήκευση ηλεκτρικής ενέργειας ακόμα και μετά την αποσύνδεση οποιασδήποτε πηγής. Το κύριο μέγεθος που χαρακτηρίζει την λειτουργία των πυκνωτών ονομάζεται χωρητικότητα και είναι συνάρτηση των γεωμετρικών χαρακτηριστικών της συστοιχίας και της διηλεκτρικής

σταθεράς του μέσου που βρίσκεται ανάμεσα στους δύο οπλισμούς. Η χωρητικότητα ενός επίπεδου πυκνωτή αποτελούμενου από δύο επίπεδες πλάκες φορτίου +Q και Q δίνεται από τη σχέση:

$$C = \frac{\epsilon_0 \epsilon A}{d} \quad (3.1)$$

όπου C: χωρητικότητα σε Farad

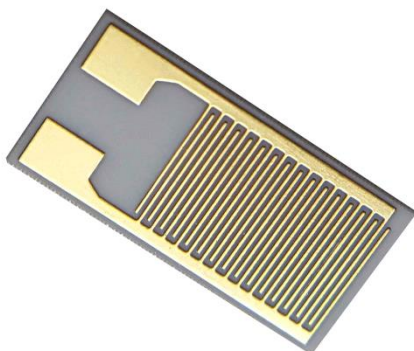
ϵ : η σχετική διηλεκτρική σταθερά του διηλεκτρικού σε $F \cdot m^{-1}$

ϵ_0 : η απόλυτη διηλεκτρική σταθερά του κενού και έχει τιμή $8.85418 \times 10^{-12} F \cdot m^{-1}$

A: το εμβαδόν του κάθε οπλισμού σε m^2

d: η απόσταση μεταξύ των δυο οπλισμών σε m

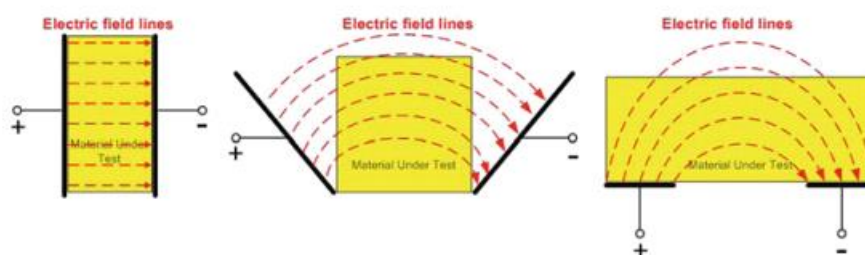
Η χρησιμότητα των πυκνωτών στους βιοαισθητήρες οφείλεται στην ικανότητα να αλλάζουν την χωρητικότητά τους με την παρεμβολή διαφορετικών βιολογικών ή χημικών δειγμάτων. Με την μέτρηση της αλλαγής της χωρητικότητας γίνεται να εξακριβωθεί η ύπαρξη ενός βιολογικού δείγματος όπως ενός ιού ή βακτηρίου ή η συγκέντρωση αυτών ή άλλων χημικών ουσιών καθώς και άλλων χημικών χαρακτηριστικών των υπό εξέταση δειγμάτων.



Εικόνα 19. Εμπορική κατασκευή interdigitated πυκνωτή [55].

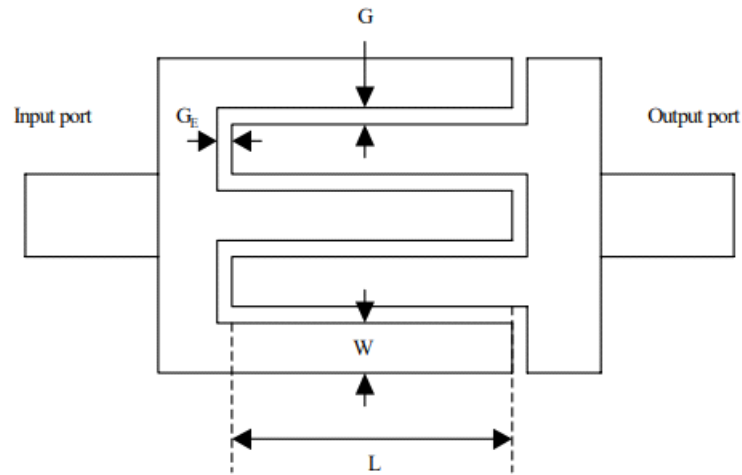
Στην παρούσα εργασία θα χρησιμοποιηθεί ένα ιδιότυπο είδος πυκνωτή με την επωνομασία πυκνωτής ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων ή interdigitated πυκνωτής ή interdigital και παρουσιάζεται στην παραπάνω εικόνα (Εικόνα 19). Ο όρος προκύπτει από τη μορφολογία της διάταξης που προσομοιάζει αυτήν της εναλλαγής ενός περιοδικού μοτίβου ψηφίων (digits) ή δακτύλων τοποθετημένων σε πλήρη

παραλληλία. Εφόσον τα ηλεκτρόδια του interdigital βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο η διάταξη παρουσιάζει υψηλό SNR (signal-to-noise ratio-λόγος σήματος προς θόρυβο), όμως η επανάληψη του μοτίβου των digits δίνει ισχυρό σήμα. Αυτού του τύπου οι πυκνωτές χρησιμοποιούνται ευρέως σαν διατάξεις περιοδικών ηλεκτροδίων σε εφαρμογές που αναφέρονται στις τηλεπικοινωνίες και προφανώς σαν διατάξεις ανίχνευσης και μετρήσεων στα πεδία της χημείας και της ιατρικής. Ο interdigitated πυκνωτής είναι ένα στοιχείο παραγωγής RF/μικροκυμάτων με ικανότητα παραγωγής υπερυπερατών χαρακτηριστικών όπως γίνεται εμφανές και από την προτίμησή του στις τηλεπικοινωνίες σε εφαρμογές υψηλών συχνοτήτων. Το παραγόμενο σήμα έχει μεγαλύτερη ποιότητα από τον κοινό πυκνωτή ή τον πυκνωτή MIM (Metal-Insulator-Metal). Η ανάπτυξη αυτού του είδους πυκνωτή προέκυψε λόγω τη ανάγκης για αύξηση της ικανότητας αποθήκευσης φορτίου αυξάνοντας το πρακτικό μήκος της διάταξης. Το φορτίο του interdigitated πυκνωτή αποθηκεύεται ανάμεσα στο στενό αλλά πολύ μακρύ διάκενο που προκύπτει ανάμεσα στα διπλωμένα δάκτυλα της διάταξης. Συνήθως, το αγώγιμο υλικό που χρησιμοποιείται είναι ο χαλκός. Η αρχή λειτουργίας του interdigitated πυκνωτή βασίζεται και ακολουθεί αυτήν του κοινού πυκνωτή των δύο παράλληλων πλακών αλλά με αυτούς πλέον να ανοίγουν όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 20).



Εικόνα 20. Ηλεκτρικές γραμμές από τον κοινό πυκνωτή στον interdigitated [56].

Την αλλαγή της χωρητικότητας της διάταξης την επιφέρει το υπό εξέταση δείγμα όταν μέσα από αυτό περνάνε και εν μέρει εμποδίζονται οι ηλεκτρικές γραμμές πεδίου οι οποίες παράγονται από τον αισθητήρα. Έτσι, η διάταξη συμπεριφέρεται σαν πυκνωτής του οποίου η χωρητική αντίδραση είναι συνάρτηση των μετρούμενων ιδιοτήτων των υπό εξέταση δειγμάτων.



Εικόνα 21. Σχηματική αναπαράσταση interdigitated πυκνωτή [57].

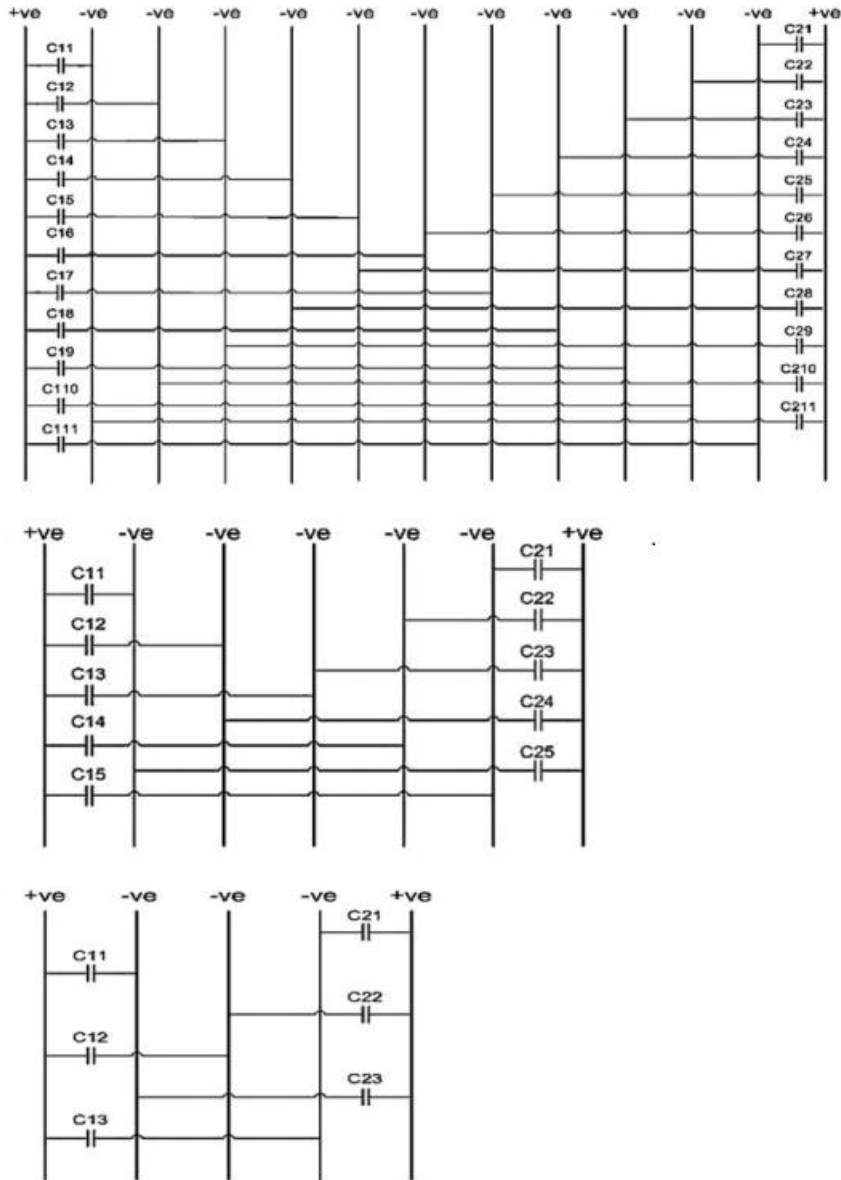
Η αποδοτικότητα του interdigital είναι συνάρτηση των φυσικών του παραμέτρων. Οι σημαντικότερες παράμετροι όπως φαίνονται και στη σχηματική αναπαράσταση του πυκνωτή (Εικόνα 21), περιλαμβάνουν τον αριθμό των δακτύλων (N) το πλάτος (W) και το μήκος (L) αυτών, καθώς και τον χώρο αναμεσά τους (G) στο κατακόρυφο επίπεδο και στο οριζόντιο επίπεδο (G_e), τα οποία δύο τελευταία μεγέθη είναι συνήθως ίδια. Όπως και με τον πυκνωτή των δύο παράλληλων πλακών, και εδώ χρησιμοποιούνται δύο θύρες για την επαγωγή τάσης μια αρνητική και μια θετική.

Επειδή η διάταξη συνήθως σχεδιάζεται πάνω σε συγκεκριμένο υπόστρωμα, οι ιδιότητές του επηρεάζουν και την απόδοση του interdigital. Επιγραμματικά, αναφέρεται το ύψος του υποστρώματος και η διηλεκτρική του σταθερά. Τέλος, είναι σημαντικό και το πάχος του αγωγού (T) καθώς και η αντίστασή του (ρ).

3.7.1 Αναλυτικά μοντέλα υπολογισμού της χωρητικότητας στους interdigitated πυκνωτές

Παρακάτω παρουσιάζονται διάφορα αναλυτικά μοντέλα και ισοδύναμα κυκλώματα για την εξαγωγή των μεγεθών την χωρητικότητας.

Το πρώτο μοντέλο είναι βασισμένο στην εργασία των Rahman et al [56]. Ο αριθμός των αρνητικών ηλεκτροδίων στην παρακάτω σχεδίαση είναι μεγαλύτερος από αυτόν των θετικών. Παρουσιάζονται τρεις διαφορετικές διατάξεις.



Εικόνα 22. Σχηματική αναπαράστασή του πρώτου αναλυτικού μοντέλου [56].

Πρακτικά όλοι οι πυκνωτές είναι συνδεδεμένοι σε σειρά συνεπώς :

$$C_{12} = \frac{1}{2} C_{11}; \dots C_{1n} = \frac{1}{n} C_{11} \quad (3.2)$$

Και

$$C_{22} = \frac{1}{2} C_{21}; \dots C_{2n} = \frac{1}{n} C_{21} \quad (3.3)$$

όπου $C_{11}=C_{21};C_{11}$ η χωρητικότητα μεταξύ ενός θετικού ηλεκτροδίου και του πλησιέστερου αρνητικού ηλεκτροδίου.

Η συνολική χωρητικότητα προέρχεται από τις σχέσεις:

$$C_{eq(1)} = C_{11} + C_{12} + \dots + C_{1n} \quad (3.4)$$

και

$$C_{eq(2)} = C_{21} + C_{22} + \dots + C_{2n} \quad (3.5)$$

που εκφράζουν τις χωρητικότητες (F) για την πρώτη και την δεύτερη γεωμετρία της κάθε διάταξης όταν αυτές αθροιστούν δηλαδή:

$$C_{Total} = C_{eq(1)} + C_{eq(2)} + \dots + C_{eq(n)} \quad (3.6)$$

Σύμφωνα με ένα δεύτερο μοντέλο από την εργασία των Beeresha et al [58]. Η χωρητικότητα (F) δίνεται από τη σχέση:

$$C = (\epsilon_r + 1)L[(N - 3)A_1 + A_2] \quad (3.7)$$

όπου ϵ_r η διηλεκτρική σταθερά του υποστρώματος (F/m)

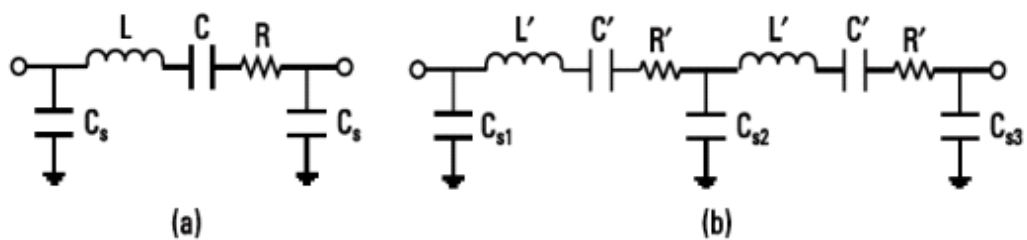
Όπου A_1 εξάγεται από τη σχέση :

$$A_1 = 4.409 \tanh \left[0.55 \left(\frac{h}{W} \right)^{-0.45} \right] \times 10^{-6} \quad (3.8)$$

και A_2 από τη σχέση :

$$A_2 = 9.92 \tanh \left[0.52 \left(\frac{h}{W} \right)^{-0.5} \right] \times 10^{-6} \quad (3.9)$$

Το ισοδύναμο κύκλωμα είναι το εξής:



Εικόνα 23. (α) Μοντέλο χαμηλών συχνοτήτων (β) Μοντέλο υψηλών συχνοτήτων [58].

Με το παραπάνω προκύπτει η αντίσταση σειράς (Ω) από τον τύπο:

$$R = 1.33 \frac{L}{WN} R_S \quad (3.10)$$

Όπου R_S (Ω) είναι η αντίσταση των πυκνωτών που δίνεται στο datasheet του κατασκευαστή.

Η χωρητικότητα C_S (F) υπολογίζεται από την :

$$C_S = 0.5 \times \frac{\sqrt{\epsilon_{re}}}{Z_0 C} \times L \quad (3.11)$$

και η επαγωγή (H) από την :

$$L = \frac{\sqrt{\epsilon_{re}} Z_0}{C} \times Length \quad (3.12)$$

όπου η αντίσταση Z_0 (Ω) και η διηλεκτρική σταθερά ϵ_{re} (F/m) υπολογίζονται από τις παραμέτρους του datasheet και $c = 3 \times 10^8$ m/s η ταχύτητα του φωτός

Στη τελευταία εξίσωση το L εκφράζει την επαγωγή ενώ το $Length$ είναι το μήκος των δακτύλων (m) που είχε οριστεί πριν ως L .

Η γενική έκφραση της χωρητικότητας (F) είναι:

$$C = \frac{\epsilon_{re} \times 10^{-3}}{18\pi} \frac{K(k)}{K'(k)} (N - 1)L \quad (3.13)$$

Ο λόγος $K(k)/K'(k')$ προσδιορίζεται από τις σχέσεις:

$$\frac{K(k)}{K'(k)} = \begin{cases} \frac{1}{\pi} \ln \left\{ 2 \frac{1+\sqrt{k}}{1-\sqrt{k}} \right\} & \text{for } 0.707 \leq k \leq 1 \\ \frac{\pi}{\ln \left[2 \frac{1+\sqrt{k}}{1-\sqrt{k}} \right]} & \text{for } 0 \leq k \leq 0.707 \end{cases} \quad (3.14)$$

$$k = \tan^2 \frac{\alpha\pi}{4b} \quad (3.15)$$

Και:

$$k' = \sqrt{1 - k^2} \quad (3.16)$$

$$\alpha = W/2 \quad (3.17)$$

$$b = (W + G)/2 \quad (3.18)$$

Ένα ακόμα αναλυτικό μοντέλο εξάγεται από την εργασία των González, Kolosovas-Machuca et al [59] με τη χωρητικότητα (F) να δίνεται από τη σχέση:

$$C_{total} = (N - 3)C_1/2 + 2 \frac{C_1 C_E}{C_1 + C_E} \text{ for } N > 3 \quad (3.19)$$

όπου C_1 και C_E δίνονται από:

$$C_1 = \epsilon_0 L \left(\frac{K(k_{1\infty})}{K'(k'_{1\infty})} + (\epsilon_1 - 1) \frac{K(k_{1,1})}{K'(k'_{1,1})} + \epsilon_S \frac{K(k_{1\infty})}{K'(k'_{1\infty})} \right) \quad (3.20)$$

$$C_E = \epsilon_0 L \left(\frac{K(k_{E\infty})}{K'(k'_{E\infty})} + (\epsilon_1 - 1) \frac{K(k_{E,1})}{K'(k'_{E,1})} + \epsilon_S \frac{K(k_{E\infty})}{K'(k'_{E\infty})} \right) \quad (3.21)$$

Και

$$k_{1\infty} = \sin \frac{\pi\eta}{2} \quad (3.22)$$

$$k_{E\infty} = \frac{2\sqrt{\eta}}{1 + \eta} \quad (3.23)$$

$$\eta = 2W/\lambda \quad (3.24)$$

$$\lambda = 2(W + G) \quad (3.25)$$

Όπου τα μεγέθη W, G, N, k έχουν οριστεί παραπάνω.

Σαν τελευταίο αναλυτικό μοντέλο παρουσιάζεται αυτό των Mamishev et al. [54] με τη σύνθετη αγωγιμότητα να εκφράζεται από τον τύπο:

$$Y = G + j\omega C \quad (3.26)$$

όπου G ορίζεται από τη σχέση:

$$G = \frac{\sqrt{2NW}}{\pi^2} \left[\sigma_{resin} + \sigma_{sub} + \frac{\pi T}{L} \sigma_{ox} + \frac{\pi}{L} (\kappa_{ox} + \kappa_{sub}) \right] \quad (3.27)$$

Όπου

σ_{resin} : η αγωγιμότητα της ρυτίνης (Ω^{-1})

σ_{sub} : η αγωγιμότητα του υποστρώματος (Ω^{-1})

σ_{ox} : η αγωγιμότητα του οξειδίου (Ω^{-1})

κ_{ox} : η επιφανειακή αγωγιμότητα στη διεπιφάνεια οξειδίου-resin (Ω^{-1})

κ_{sub} : η επιφανειακή αγωγιμότητα στη διεπιφάνεια υποστρώματος-οξειδίου (Ω^{-1})

T : το πάχος του στρώματος οξειδίου (m)

Και C (F) από τη σχέση:

$$C = \frac{\sqrt{2NW}}{\pi^2} \left[\varepsilon_{resin} + \varepsilon_{sub} + \frac{\pi T}{L} \varepsilon_{ox} \right] \quad (3.28)$$

ε_{resin} : η διηλεκτρική διαπερατότητα του resin (F/m)

ε_{sub} : η διηλεκτρική διαπερατότητα του υποστρώματος (F/m)

ε_{ox} : η διηλεκτρική διαπερατότητα του οξειδίου (F/m)

3.7.2 Πλεονεκτήματα χρήσης interdigitated πυκνωτών

Η χρήση των interdigitated πυκνωτών βρίσκεται υψηλά στις προτιμήσεις των κατασκευαστών καθώς παρέχει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι στην χρήση των συμβατικών και κοινών πυκνωτών. Αρχικά, δίνουν την δυνατότητα για τη χρήση και την προσπέλαση μόνο της μίας πλευράς της διάταξης για το υπό εξέταση δείγμα. Έτσι από την μία πλευρά το δείγμα μπορεί να βρίσκεται σε διάδραση με τα ηλεκτρικά ή μαγνητικά πεδία και από την άλλη πλευρά να επιτρέπεται η διάδραση με υγρασία, αέρια ή άλλα χημικά που αλλάζουν τις ηλεκτρικές ιδιότητες του υπό εξέταση δείγματος. Επιπλέον, με τη ρύθμιση των παραμέτρων που αναφέρθηκαν παραπάνω δηλαδή τον αριθμό των δακτύλων, το χώρο ανάμεσα σε αυτά κ.α. είναι δυνατό να ληφθούν πολύ ισχυρότερα σήματα εξόδου. Ανάλογα με τις απαιτήσεις και τις προδιαγραφές του κάθε δείγματος ή της κάθε εφαρμογής επιλέγεται το κατάλληλο αντιστάθμισμα μεταξύ του λόγου σήματος-θορύβου και του ελάχιστου εμβαδού της συνολικής διάταξης. Άλλος ένας σοβαρός παράγοντας για την προτίμηση του interdigital αποτελεί η απλούστερη μοντελοποίηση και προσομοίωση. Στους interdigitated πυκνωτές, όταν ο λόγος των δακτύλων προς το χωρικό μήκος κύματος είναι μεγάλος τότε γίνεται εφικτή η αναπαράσταση στο επίπεδο αντί για τον χώρο, γεγονός που ευνοεί τις εφαρμογές όπου απαιτούνται επάλληλες και εκτενείς προσομοιώσεις. Τέλος, παρουσιάζουν βελτιωμένο εύρος συχνοτήτων [54].

3.8 Τεχνικές μέτρησης

3.8.1 Αμπερομετρία

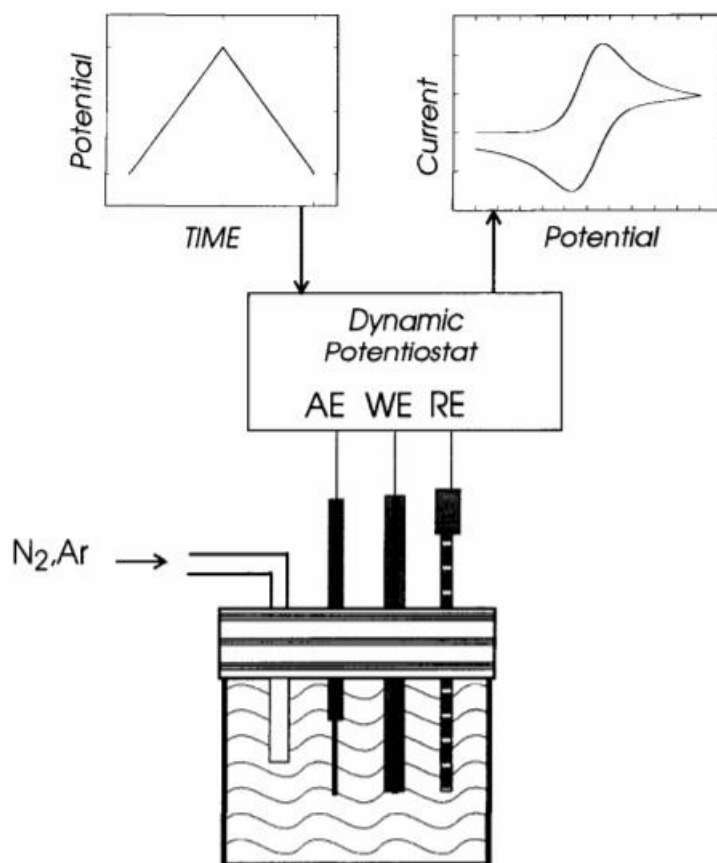
Η αμπερομετρία αναφέρεται στην μέτρηση των ρευμάτων που προκύπτουν από την οξείδωση ή την οξειδοαναγωγή ενός δείγματος μαζί με το βιομόριο ανίχνευσης υπό την παρουσία σταθερής τάσης στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Η είσοδος σε αυτή την τεχνική είναι η τάση που προκαλεί τη μεταφορά ηλεκτρονίων από ή προς το δείγμα. Το ρεύμα της εξόδου είναι ανάλογο σε αυτή την μεταφορά και καταδεικνύει τις ιδιότητες του ανιχνευόμενου αναλυτή όταν υπάρχει αναλογία με την συγκέντρωσή του [45].

3.8.2 Βολταμμετρία

Αποτελεί την πιο κοινή τεχνική στην ηλεκτροχημική ανάλυση καθώς είναι ιδιαίτερα ευέλικτη. Ένα εξαιρετικό πλεονέκτημα της τεχνικής είναι η παραγωγή πολύ μικρών επιπέδων θορύβου, που έχει ως συνέπεια την ανάπτυξη βιοαισθητήρων μεγάλης ευαισθησίας. Επιπλέον, παρέχει την δυνατότητα για πολλαπλή ανίχνευση διαφορετικών ουσιών σε ένα κύκλο πειραμάτων.

3.8.2.1 Κυκλική βολταμμετρία

Η κυκλική βολταμμετρία γραμμικής σάρωσης (cyclic voltammetry- CV) αποτελεί μία από τις πλέον καθιερωμένες μεθόδους μέτρησης των ηλεκτροχημικών αντιδράσεων. Χρησιμοποιείται για την μέτρηση της ηλεκτροχημικής συμπεριφοράς ή των ογκομετρικών ιδιοτήτων των δειγμάτων και των φαινομένων διασύνδεσης στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Ενδεικτικά, αναφέρεται πως μέσω της τεχνικής αυτής γίνεται να εξακριβωθεί μια απόφαση για το αν η αντίδραση είναι αντιστρεπτή, για την ύπαρξη φαινομένων προσρόφησης, εκρόφησης, κατάλυσης ή παρεμπόδισης ,για την δημιουργία ενδιάμεσων προϊόντων, συζευγμένων αντιδράσεων μεταφοράς κ.α. Η τεχνική βρίσκει εφαρμογή στο πεδίο των βιοαισθητήρων με έγχυση ενζύμων πάνω στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων. Οι ηλεκτροχημικοί αισθητήρες γενικότερα μπορούν να επωφεληθούν της τεχνικής εφόσον δεν απαιτείται κάποια διάταξη μετατροπής αφού τα σήματα διέγερσης και απόκρισης είναι ηλεκτρικά. Τα παραπάνω αναφερόμενα πλεονεκτήματα που δείχνουν την μεγάλη ελαστικότητα και το εύρος χρήσεων της μεθόδου, σε συνδυασμό με τη μεγάλη αποτελεσματικότητα της, λόγω της ταχείας, επιλεκτικής και ευαίσθητης παρατήρησης της οξειδοαναγωγικής συμπεριφοράς των διαφόρων δειγμάτων, την καθιστούν ως τεχνική σπουδαίας σημασίας και άξια αναφοράς για τις ανάγκες της παρούσας εργασίας. Το τελευταίο θα γίνει ακόμη περισσότερο εμφανές με την παρουσίαση των επόμενων παραγράφων όπου μελετώνται οι ήδη υπάρχουσες μέθοδοι μέτρησης της σεροτονίνης.



Εικόνα 24. Σχηματική αναπαράσταση του ηλεκτροχημικού κελιού [60].

Σε ένα σύστημα ποτενσιοστάτη επιβάλλεται σε ένα ηλεκτρόδιο ένα κυκλικό γραμμικό δυναμικό με σκοπό να εξαχθεί η χαρακτηριστική ρεύματος-δυναμικού. Η ηλεκτροχημική αντίδραση συμβαίνει στο ηλεκτρόδιο εργασίας (WE) το οποίο παρουσιάζει γραμμική μεταβολή του δυναμικού του. Συνήθη υλικά για αυτό το ηλεκτρόδιο αποτελούν η πλατίνα, ο χρυσός, το ασήμι και glassy carbon. Επιπλέον, στο σημείο αυτό θα ήταν εύλογο να αναφερθεί, πως μέσω τη κυκλικής βολταμμετρίας ερευνάται και η χρήση διαφορετικών υλικών όπως τα πολυμερή για την επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Η διάταξη χρησιμοποιεί ένα βοηθητικό ηλεκτρόδιο που έχει σαν λειτουργία την ισορρόπηση της φαρανταϊκής διαδικασίας στο WE ηλεκτρόδιο μέσω της μεταφοράς ηλεκτρονίων αντίθετης φοράς. Ένα τρίτο ηλεκτρόδιο μέσα στο ηλεκτροχημικό κελί της μέτρησης καλείται ηλεκτρόδιο αναφοράς και το συνηθέστερο υλικό του σε διατάξεις υδατικών διαλυμάτων αποτελεί το Ag/AgCl (silver chloride electrode). Η συνδεδεμένη διάταξη των τριών ηλεκτροδίων βυθίζεται σε μη αναδευόμενο διάλυμα. Η προτιμότερη γεωμετρία της

διάταξης απαιτεί να βρίσκονται κοντά μεταξύ τους σε τριγωνική συστοιχία με το ηλεκτρόδιο εργασίας στη μέση (Εικόνα 24).

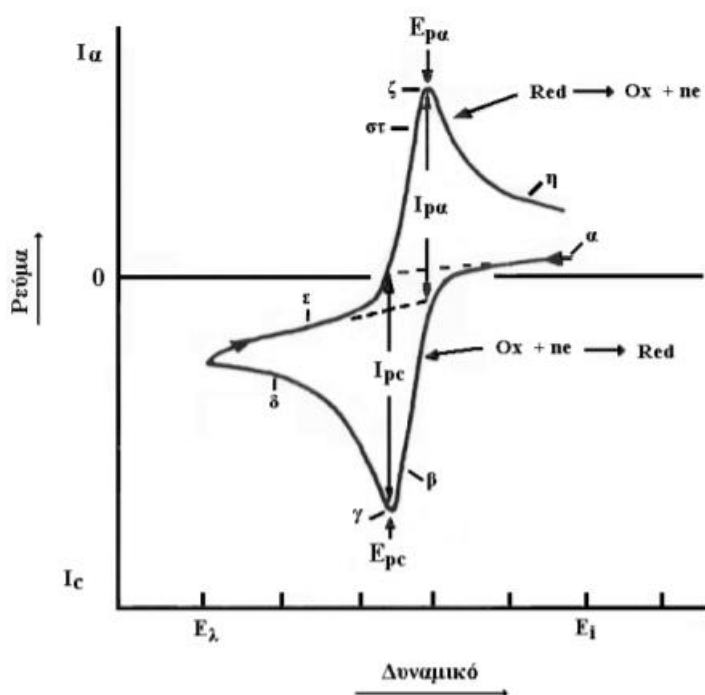
Στη συνέχεια εφαρμόζεται το δυναμικό πάνω στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Η συνήθης μορφή του δυναμικού ακολουθεί αυτή ενός τριγωνικού σήματος. Σε μια τυπική γραμμική βολταμετρική σάρωση (LSV) το δυναμικό ηλεκτροδίου αλλάζει γραμμικά από ένα αρχικό δυναμικό E_1 στο οποίο δεν συμβαίνει ηλεκτρόλυση σε ένα τελικό δυναμικό E_f . Στην κυκλική βολταμετρία η σάρωση καταλήγει σε ένα τελικό δυναμικό που τυπικά έχει την ίδια τιμή με το αρχικό αφού φτάσει σε ένα δυναμικό κορυφής. Άρα η σάρωση γίνεται ανάμεσα σε δύο τιμές δυναμικού E_1 και E_2 και κάθε φορά που το δυναμικό φτάνει σε κάποια από αυτές τις τιμές τότε αλλάζει φορά. Όταν το δυναμικό μειώνεται, δηλαδή υπάρχει καθοδική σάρωση στο ηλεκτρόδιο, συμβαίνει αναγωγική δράση, ενώ όταν το δυναμικό αυξάνεται, δηλαδή υπάρχει ανοδική σάρωση στο ηλεκτρόδιο διεξάγονται οξειδωτικές δράσεις. Η I-E χαρακτηριστική έξοδος της διάταξης ονομάζεται κυκλικό βολταμμογράφημα ή απλώς βολταμμογράφημα. Έστω μια αντίδραση αναγωγής που περιλαμβάνει το ηλεκτρενεργό δείγμα O μέσα στο κελί με το διάλυμα. Η παραπάνω αντίδραση είναι ελεγχόμενη από τη διάχυση καθώς εξαρτάται από το ρυθμό της διάχυσης του O στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Το n εκφράζει τον αριθμό των ηλεκτρονίων που μεταφέρονται από το ηλεκτρόδιο στο O. Το διάλυμα επίσης περιλαμβάνει μεγάλη συγκέντρωση αδρανών ηλεκτρολυτών για να μειώνεται η αντίσταση του κελιού και να ελαχιστοποιείται το φαινόμενο της ηλεκτρομετανάστευσης. Για την παραπάνω αντίδραση, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω όταν το δυναμικό μειώνεται τότε η επιφανειακή συγκέντρωση του O ξεκινά να μειώνεται, και συνεπώς αυξάνεται η βαθμίδα συγκέντρωσης και η τιμή του ρεύματος. Όταν η επιφανειακή αυτή συγκέντρωση φτάσει την τιμή του μηδενός η διάχυση δεν θα μπορέσει να προσδώσει O στην επιφάνεια οπότε το ρεύμα οδηγείται σε μια κορυφή στην χαρακτηριστική I-E. Το ρεύμα κορυφής δίνεται από την σχέση των Randles – Sevcik:

$$i_{peak} = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} A D^{1/2} C v^{1/2} \quad (3.29)$$

όπου v ρυθμός σάρωσης (V/s), n ο αριθμός των ηλεκτρονίων, A η επιφάνεια του ηλεκτροδίου (m^2), D ο συντελεστής διάχυσης (cm^2/s) και C η συγκέντρωση (mol/cm^3).

Σαν συμπέρασμα της εξίσωσης, εξάγεται η αναλογία με την συγκέντρωση του αναλύτη και ο ρυθμός σάρωσης υψωμένος στο τετράγωνο. Η ταχύτητα σάρωσης παίρνει τιμές της τάξεως των mV/s μέχρι των MV/s . Η σάρωση σε πολύ μεγάλες ταχύτητας γίνεται εφικτή μέσω της χρήσης ηλεκτροδίων κατασκευασμένων σε διαστάσεις μικρού.

Έτσι, αν ληφθεί υπόψιν ένα αντιστρεπτό σύστημα $Ox + ne \rightarrow Red$ οξειδοαναγωγικής αντίδρασης ηλεκτροενεργής ουσίας σε φέροντα ηλεκτρολύτη όπως φαίνεται και στο παρακάτω βολταμογράφημα:



Εικόνα 25. Χαρακτηριστική ρεύματος-δυναμικού για την κυκλική βολταμετρία [61].

Εξηγείται συνοπτικά ως εξής:

Αρχικά εφαρμόζεται δυναμικό εκκίνησης E_i στο σημείο (α) οπότε υπάρχει διέλευση ελάχιστου χωρητικού ρεύματος.

(α→β) Καθοδική σάρωση οπότε αρχίζει η αναγωγή των Ox και φτάνει στο

(γ) που εκφράζει την μέγιστη τιμή I_{pc} που έχει εκφραστεί παραπάνω η οποία αντιστοιχεί στο δυναμικό E_{pc} . Το καθοδικό ρεύμα θα μειωθεί εφόσον τα Ox

εξαντλούνται μέχρι να φτάσει στο σημείο (δ) όπου τα Ox μετατρέπονται σε Red τα οποία με την σειρά τους συσσωρεύονται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Έπειτα το δυναμικό οδεύει προς την μέγιστη θετική τιμή σάρωσης και καθώς την προσεγγίζει, οξειδώνονται τα Red και προκαλούν το ανοδικό ρεύμα (ε->στ) έως ότου να φτάσει στην μέγιστη τιμή στο σημείο (ζ). Τελικά, το ρεύμα μειώνεται μέχρι το σημείο (η) ,αφού η συγκέντρωση των Red μειώνεται λόγω της μετατροπής τους σε Ox. Το δυναμικό επανατοποθετείται στην τιμή E_i για να ξεκινήσει ο επόμενος κύκλος σάρωσης[45,46,61].

Καθ' όλη τη διάρκεια της σάρωσης ικανοποιείται η εξίσωση του Nernst [61].

$$E = E^0 + \frac{V_T}{z} \ln \frac{\alpha_{Ox}}{\alpha_{Red}} = E^0 + \frac{\lambda V_T}{z} \log_{10} \frac{\alpha_{Ox}}{\alpha_{Red}} \quad (3.30)$$

Όπου:

E^0 : το τυπικό δυναμικό αναγωγής (V)

α : η χημική δραστηριότητα για το αντίστοιχο δείγμα (Ox και Red)

z : ο αριθμός των μεταφερόμενων ηλεκτρονίων

$\lambda V_T = 0.05916$ V

3.8.2.2 Άλλες τεχνικές βολταμμετρίας

Βολταμμετρία γραμμικής σάρωσης δυναμικού (Linear Sweep Voltammetry -LSV)

Είναι η πιο απλή τεχνική βολταμμετρίας. Το δυναμικό αποτελεί γραμμική συνάρτηση του χρόνου. Το ρεύμα στο ηλεκτρόδιο εργασίας έχει δύο συνισταμένες: το φαρανταϊκό και το χωρητικό ρεύμα. Το πρώτο είναι αποτέλεσμα της εκφόρτισης της ηλεκτροενεργής ένωσης (Aox). Το δεύτερο, της παραγωγής ενός διπλού ηλεκτρικού στρώματος μεταξύ ηλεκτροδίου και διαλύματος. Το συνολικό ρεύμα είναι το άθροισμα των δύο. Με την αύξηση του ρυθμού σάρωσης, αυξάνει και το χωρητικό ρεύμα, οπότε δημιουργούνται τεράστιοι περιορισμοί ως προς την ευελιξία της τεχνικής, αφού πρόκειται για ευαισθησία της τάξεως των μιλιγραμμαρίων ανά λίτρο.

Παλμική βολταμμετρία (pulse-staircase voltammetry)

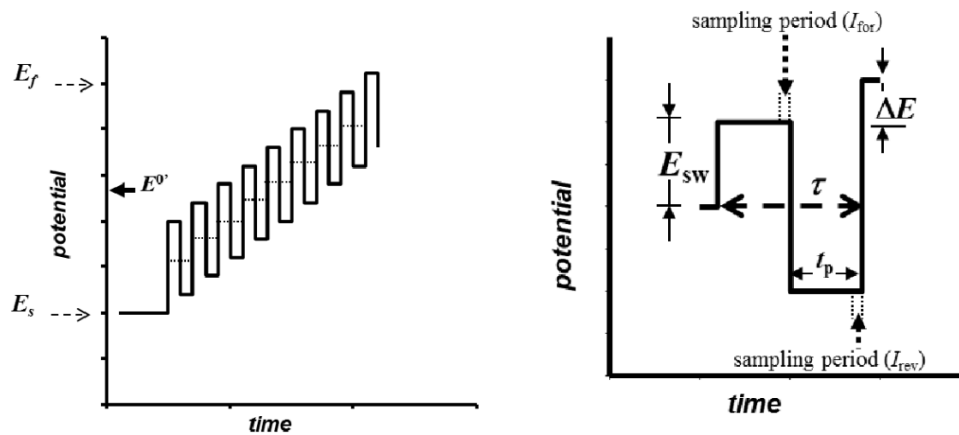
Αποτελεί διαφοροποίηση της LSV. Η διαφορά έγκειται στη δημιουργία παλμών με υπέρθεση στην εφαρμογή του δυναμικού αδιάκοπα. Αυτοί οι παλμοί θα οδηγήσουν στην ταχύτερη μείωση του χωρητικού ρεύματος λίγο μετά την εφαρμογή τους ενώ το φαρανταϊκό θα φθίνει βραδύτερα. Με τη δειγματοληψία να λαμβάνει χώρο λίγο πριν την εφαρμογή του επόμενου παλμού, η επίδραση του χωρητικού ρεύματος μειώνεται αισθητά.

Διαφορική παλμική βολταμμετρία (Differential pulse voltammetry)

Με την υπέρθεση μιας σειράς περιοδικών παλμών σταθερού πλάτους και διάρκειας στην τεχνική της γραμμικής σάρωσης επιτυγχάνεται καλύτερη μείωση της επίδρασης του χωρητικού ρεύματος. Σε αυτήν την τεχνική μετριέται η διαφορά μεταξύ του ρεύματος λίγο πριν την εφαρμογή κάθε παλμού και στο τέλος του παλμού και τελικά η επίδραση του χωρητικού ρεύματος φτάνει να γίνεται σχεδόν ασήμαντη και η ευαισθησία να αγγίζει την τάξη των 10-100 μg ανά λίτρο.

Βολταμμετρία τετραγωνικού παλμού (Square Wave Voltammetry- SWV)

Αποτελεί περαιτέρω εξέλιξη των αμέσως προηγούμενων τεχνικών. Εφαρμόζεται ένα υψίσυχνο τετραγωνικό κύμα στην γραμμική μεταβολή του δυναμικού που υπόκειται σε δειγματοληψία δύο φορές στο τέλος κάθε μισού του κύματος δηλαδή σε κάθε τέλος ενός παλμού ορθής φοράς αλλά και αντίστροφης φοράς όπως φαίνεται στο παρακάτω διάγραμμα (Εικόνα 26). Τα δύο αποτελέσματα της δειγματοληψίας κάθε κύκλου προστίθενται και καταγράφονται σαν απόκριση ρεύματος. Η ευαισθησία βελτιώνεται ανάλογα με το πλάτος ή την συχνότητα του εφαρμοζόμενου τετραγωνικού παλμού με τυπικές τιμές ορίων ανίχνευσης 5-10 μg ανά λίτρο [45,46,62].



Εικόνα 26. Βολταμμετρία τετραγωνικού παλμού (SWV) [62].

3.8.3 Αγωγιμομετρία

Με την αγωγιμομετρία το μέγεθος που μετριέται είναι η αγωγιμότητα που αλλάζει ανάλογα με την συγκέντρωση ιόντων στο δείγμα. Οι περισσότερες αντιδράσεις προκαλούν αυτή την μεταβολή της ιοντικής συγκέντρωσης και συνεπώς την μεταβολή της αγωγιμότητας ή του ρεύματος πάνω στην επιφάνεια στην οποία έχει λάβει χώρα η αντίδραση. Συχνότερα, ένας αγωγιμομετρικός αισθητήρας αποτελείται από δύο μεταλλικά ηλεκτρόδια σε συγκεκριμένη απόσταση μεταξύ τους. Τα πλεονεκτήματα της αγωγιμομετρίας συνίστανται στην απουσία ηλεκτροδίου αναφοράς, στην δυνατότητα για δημιουργία πολύ μικρών σε μέγεθος φτηνών και εύχρηστων διατάξεων και στην άμεση απόκριση. Τα πλεονεκτήματα αφορούν τα επίπεδα της ευαισθησίας.

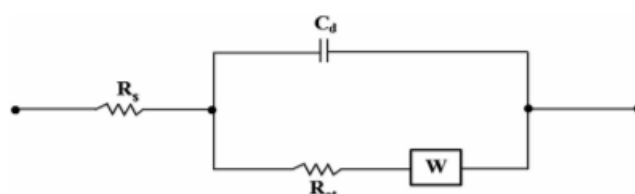
3.8.4 Ποτενσιομετρία

Στους ποτενσιομετρικούς βιοαισθητήρες η μοριακή αναγνώριση προκαλεί μεταβολή στο δυναμικό redox ή στο διαμεμβρανικό δυναμικό ή σε κάποια ιοντική δραστηριότητα. Απαιτεί την χρήση ηλεκτροδίου αναφοράς καθώς βασίζεται στη μέτρηση της διαφοράς δυναμικού ή της ηλεκτρεγερτικής δύναμης μεταξύ αυτού και ενός άλλου ηλεκτροδίου σε μηδενικό ρεύμα. Το πλεονέκτημα της τεχνικής βρίσκεται στην λογαριθμική απόκριση που δίνει την δυνατότητα για ανίχνευση εξαιρετικά μικρών μεταβολών στην συγκέντρωση.

3.8.5 Εμπεδισιομετρία

Η εμπεδισιομετρία αφορά την μέτρηση των μεταβολών της χωρητικότητας ή της σύνθετης αντίστασης στη διεπιφάνεια μεταξύ των ηλεκτροδίων όπου συμβαίνει η μεταφορά των ηλεκτρονίων. Η τεχνική που εκπροσωπεί αυτήν την κατηγορία είναι η ηλεκτροχημική φασματοσκοπία εμπέδησης (Electrochemical impedance spectroscopy-EIS). Η EIS είναι μια ευέλικτη τεχνική για την ανίχνευση φαινομένων πρόσδεσης σε βιομόρια. Απαιτεί την ίδια διάταξη τριών ηλεκτροδίων WE, RE και CE που έχει περιγραφεί για την κυκλική βολταμμετρία. Το σήμα εισόδου είναι ένα AC ημιτονοειδές σήμα με μικρό πλάτος (5-10mV p-p) που βρίσκεται σε υπέρθεση με ένα δυναμικό DC. Η μέθοδος δίνει την δυνατότητα για ανεξάρτητη μελέτη των αργών διαδικασιών όπως είναι οι χημικές αντιδράσεις και των ταχέων αντιδράσεων όπως η μεταβολή της ιοντικής αγωγιμότητας.

Το παρακάτω σχήμα είναι το ισοδύναμο κύκλωμα του Randles για τη διάταξη των τριών ηλεκτροδίων σε ένα ιοντικό διάλυμα:



Εικόνα 27. Ισοδύναμο κύκλωμα Randles για την διάταξη τριών ηλεκτροδίων σε ιοντικό διάλυμα [45].

Στο σχήμα τα παρακάτω μεγέθη προσδιορίζονται ως εξής:

R_s : η ζητούμενη αντίσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων (Ω)

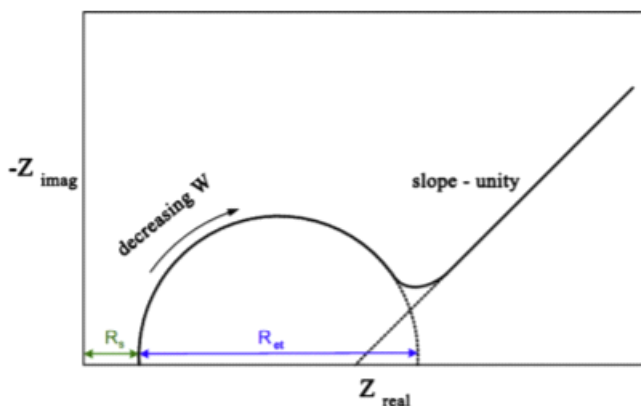
R_{et} : η αντίσταση της μεταφοράς του φορτίου που αναφέρεται στην ικανότητα της ουσίας redox να αλληλεπιδράει με την ηλεκτροδιακή επιφάνεια μέσω της μεταφοράς ηλεκτρονίων (Ω)

C : η χωρητικότητα μεταξύ των ηλεκτροδίων (F)

W : εμπέδηση Warburg

Χρησιμοποιείται το ισοδύναμο κύκλωμα για τον προσδιορισμό την αντίστασης μεταξύ των ηλεκτροδίων η οποία θα είναι σύνθετη, δηλαδή θα εκφράζεται σε

πραγματικούς αλλά και φανταστικούς όρους. Το ρεύμα κορυφής της διάταξης ακολουθεί την εξίσωση Randles-Sevcik που αναφέρθηκε προηγουμένως. Επιπλέον, θα χρειαστούν τα διαγράμματα Nyquist:



Εικόνα 28. Διάγραμμα Nyquist για την παραπάνω διάταξη [45].

Τα διαγράμματα Nyquist περιέχουν πληροφορίες για τις ηλεκτρικές ιδιότητες της επιφάνειας μεταξύ των ηλεκτροδίων και για τις αντιδράσεις μεταφοράς ηλεκτρονίων. Στο διάγραμμα το ημικύκλιο αναπαριστά την διαδικασία της ηλεκτρονιακής μεταφοράς σε υψηλές συχνότητες ενώ το γραμμικό μέρος αναπαριστά την ηλεκτροχημική διαδικασία που χαρακτηρίζεται από χαμηλά επίπεδα διάχυσης σε χαμηλές συχνότητες. Εάν η πρώτη διαδικασία ήταν ταχύτερη το διάγραμμα θα αποτελούταν από μόνο το γραμμικό του μέρος, ενώ αν ήταν πολύ αργότερη μόνο το ημικύκλιο.

Η διάμετρος του ημικυκλίου όπως φαίνεται και από το σχήμα ισούται με την R_{et} ενώ το κοινό σημείο του ημικυκλίου σε υψηλές συχνότητες με τον άξονα των πραγματικών δίνει το R_s .

Συχνά στην εμπεδισιομετρία το αποτέλεσμα εξάγεται με την αντιστοίχιση με συγκεκριμένες τιμές συχνότητας συνήθως στην περιοχή των 10kHz. Αυτό γίνεται με την εφαρμογή εναλλασσόμενου ημιτονοειδούς κύματος. Για ένα κύκλωμα RC με την αντίσταση και τον πυκνωτή σε σειρά η εμπέδηση μπορεί να μετρηθεί με την κλασική σχέση:

$$Z = \sqrt{R^2 + (1/2\pi fC)^2} \quad (3.31)$$

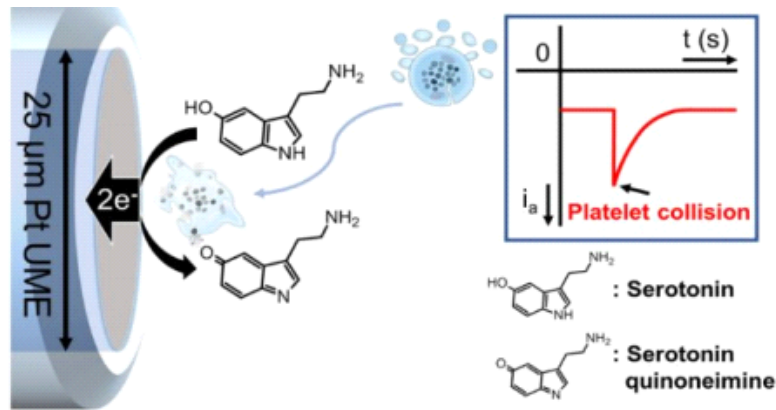
όπου Z είναι η σύνθετη αντίσταση, R η αντίσταση (Ω), f η συχνότητα (Hz) και C (F) η χωρητικότητα. Για τη μέτρηση της χωρητικότητας και της αντίστασης στο σύστημα απαιτείται και η διαφορά φάσης μεταξύ ρεύματος και τάσης [45,63] .

3.9 Υπάρχοντα συστήματα μέτρησης της σεροτονίνης

Αν και η σεροτονίνη είναι μια ούσια που όπως έχει αποσαφηνιστεί βρίσκεται στον πυρήνα των ερευνών για τις ουσίες που καθορίζουν την ανθρώπινη συμπεριφορά, η εξαιρετικά πολύπλοκη και πολύπλευρη φύση της δεν διευκολύνει την εξαγωγή καταλυτικών συμπερασμάτων όπου οι τιμές των συγκεντρώσεών της στους οργανισμούς να συναρτώνται άμεσα με τις φυσιολογικές ή βιολογικές λειτουργίες, προς αυτήν την κατεύθυνση που προσπαθεί και η παρούσα εργασία να προσθέσει την δική της συμβολή δηλαδή, και έτσι δεν έχουν αναπτυχθεί ακόμα εμπορικές συσκευές ή wearables (συσκευές που μπορούν να φορεθούν) για τη συνεχή επιτήρηση της σεροτονίνης. Παρακάτω θα παρατεθούν συνοπτικά κάποιες τεχνικές μέτρησης της σεροτονίνης που έχουν αναπτυχθεί στην βιβλιογραφία για να τεθούν τα πλαίσια των σύγχρονων μεθόδων που χρησιμοποιούνται.

-Μέθοδος πρώτη (Jungeon et al., 2020)

Η μέθοδος ανιχνεύει τη σεροτονίνη ενός αιμοπεταλίου μέσω ενιαίου συστήματος ηλεκτροχημείας (Single-Entity Electrochemistry-SEE). Τα αιμοπετάλια απομονώνονται από το αιματικό τους περιβάλλον και αναλύονται μέσω της κυκλικής βολταμμετρίας. Το αιμοπετάλιο προσκρούει με ένα μικροηλεκτρόδιο, με συνέπεια η σεροτονίνη που βρίσκεται αποθηκευμένη σε αυτό να οξειδώνεται στην επιφάνεια του και να παράγεται μια κορυφή (peak) ρεύματος στην άνοδο. Η τιμή αυτού του ρεύματος καθορίζει την τιμή της σεροτονίνης [64].



Εικόνα 29. Σχηματικό διάγραμμα οξείδωσης της σεροτονίνης στο αιμοπετάλιο και η δημιουργία ρεύματος κορυφής ως αποτέλεσμα [64].

-Μέθοδος δεύτερη (Cheng et al., 2010)

Σε αυτήν την μέθοδο κατασκευάστηκε μια μεμβράνη διπλής επίστρωσης σαν επιφάνεια ανίχνευσης της σεροτονίνης. Χρησιμοποιήθηκαν νανοστοιχεία συμπυκνωμένου οξειδίου του γραφένιου (rGO) και μοριακά χαραγμένα πολυμερή (MIPs) ενσωματωμένα με νανοσωματίδια χρυσού. Το υπό εξέταση δείγμα ήταν ορός αίματος υγιών ατόμων. Η τιμή της συγκέντρωσης της σεροτονίνης επέφερε οξεία αύξηση του ρεύματος ανόδου. Η απόδοση της παραπάνω διάταξης δεν εκφυλιζόταν σημαντικά με την παρουσία κοινών παρεμβολών όπως του ασκορβικού οξέος [65].

-Μέθοδος τρίτη (Liu et al., 2014)

Η μέθοδος αυτή αναφέρεται σε μέτρηση σε κατατεθλιμμένα ποντίκια, στο PRP (Platelet Rich Plasma) και στον εγκέφαλό τους. Το ηλεκτρόδιο αποτελείται από μια μεμβράνη με επικάλυψη Nafion σε ηλεκτρόδιο κολλοειδούς χρυσού. Η μέτρηση γίνεται σε περιβάλλον υψηλής συγκέντρωσης ντοπαμίνης, ασκορβικού οξέος και ουρικού οξέος. Η απόκριση μετριέται μέσω κυκλικής βολταμμετρίας. Η έρευνα κατέληξε πως η συγκέντρωση της σεροτονίνης στο αίμα μπορεί να αντανακλά την συγκέντρωση στον εγκέφαλο και την σοβαρότητα της κατάθλιψης στα ποντίκια [66].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Πειραματικό μέρος

Αφού έχει προηγηθεί η θεωρητική ανάλυση όσον αφορά την τεχνολογία των interdigitated πυκνωτών και έχουν αναπτυχθεί οι υπάρχουσες τεχνικές και τα υλικά των βιοαισθητήρων, θα επιχειρηθεί η ανάπτυξη ενός βιοαισθητήρα για την ανίχνευση και την μέτρηση της σεροτονίνης. Ο βιοαισθητήρας που αναπτύσσεται θα χρησιμοποιεί έναν interdigitated πυκνωτή ενώ το ligand της διάταξης που είναι υπεύθυνο για την δέσμευση και ανίχνευση της σεροτονίνης είναι βασισμένο στην τεχνολογία των GPCR βιοαισθητήρων αφού χρησιμοποιεί έναν υπότυπο των φυσικών υποδοχέων της σεροτονίνης όπως αυτοί έχουν αναλυθεί στο πρώτο κεφάλαιο στα σχετικά διαγράμματα/πίνακες και στα αντίστοιχα χωρία. Το πλεονέκτημα του βιοαισθητήρα με επιφάνεια interdigitated πυκνωτή ιδιαίτερα σε εφαρμογές μέτρησης σεροτονίνης έγκειται στην απλότητα της διάταξης, στην δυνατότητα εύκολης μεταφοράς της και στην μεγάλη ευαισθησία της. Η σεροτονίνη όντας ουσία με μεγάλη επίδραση στις ιατρικές εφαρμογές απαιτεί τα παραπάνω αναφερόμενα πλεονεκτήματα για εφαρμογές συνεχόμενης επιτήρησης ίσως και με την χρήση κάποιου wearable συστήματος. Οι αρχές λειτουργίες των interdigitated πυκνωτών και τα πλεονεκτήματά της χρήσης του δεδομένου τύπου πυκνωτή έχουν αναπτυχθεί διεξοδικά στο προηγούμενο κεφάλαιο.

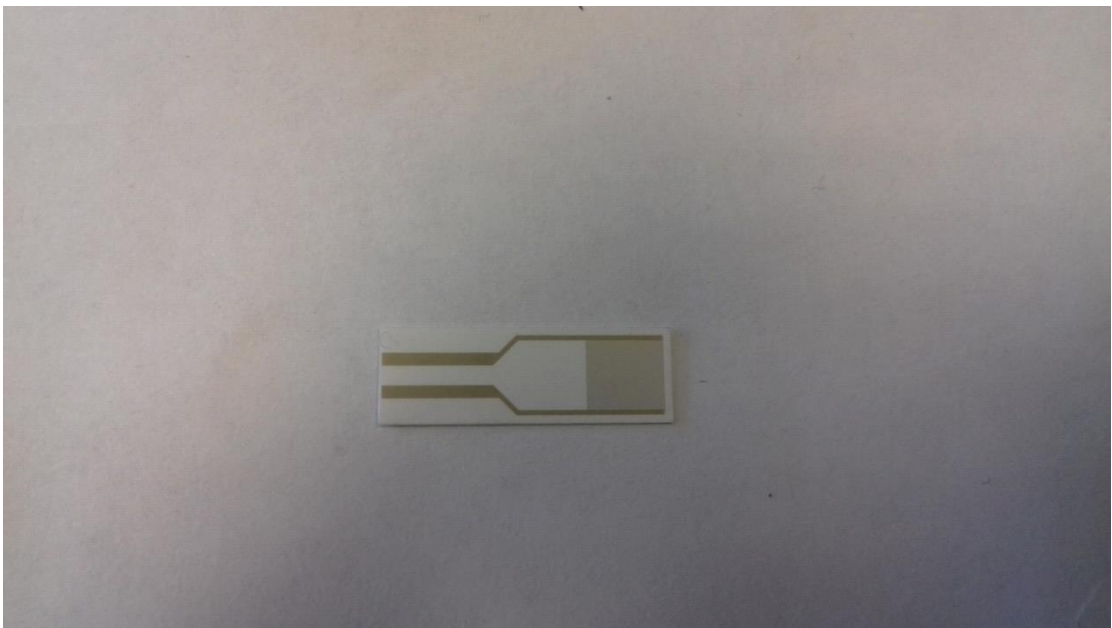
Ο βιοαισθητήρας αναπτύχθηκε στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικών Αισθητηρίων της Σχολής Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Ο αισθητήρας θα είναι εμπειρισμομετρικός, καθώς η έξοδος του συστήματος και το μέγεθος που μετριέται θα είναι η χωρητικότητα και η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στην ανάλυση που έχει γίνει στο αμέσως προηγούμενο κεφάλαιο. Σε γενικές γραμμές θα εναποτεθεί συγκεκριμένη ποσότητα σεροτονίνης πάνω στην αισθητήρια διάταξη και εν συνεχεία θα παρακολουθηθεί η μεταβολή της χωρητικότητας για τα επόμενα λεπτά. Αναμένεται η χωρητικότητα εν κενώ να είναι

εξαιρετικά χαμηλή ενώ η χωρητικότητα μετά την πάροδο ενός συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος θα πρέπει να παρουσιάζει μειωμένη τιμή για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σεροτονίνης.

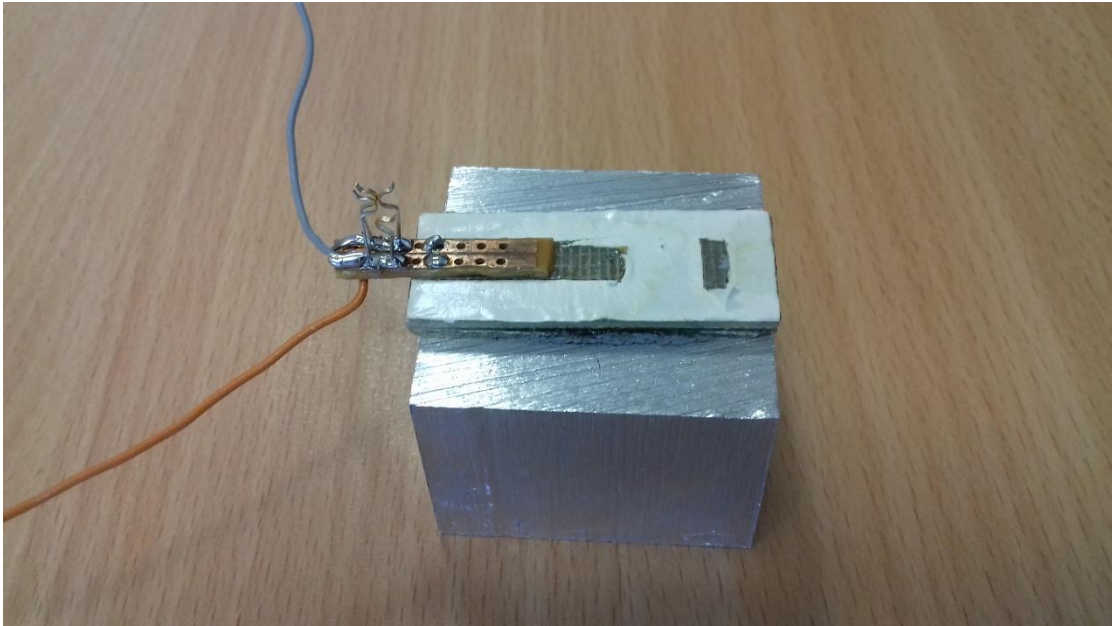
4.1 Κατασκευή της αισθητήριας διάταξης

Για την κατασκευή της διάταξης του βιοαισθητήρα θα χρειαστεί αρχικά ο interdigitated πυκνωτής.



Εικόνα 30. Ο interdigitated πυκνωτής.

Έπειτα παρατίθεται η βάση στήριξης του interdigitated πυκνωτή. Είναι εξοπλισμένη με δύο μεταλλικές επαφές χρυσού, για να ακινητοποιούν τα δύο άκρα του πυκνωτή. Στην διάταξη είναι κολλημένα δύο καλώδια, τα οποία συνδέονται με τις δύο επαφές του interdigitated πυκνωτή (αρνητική και θετική) και μπορούν μετά να συνδεθούν στο μηχάνημα LCR που παρατίθεται παρακάτω ώστε να εξαχθεί η ένδειξη της μέτρησης της χωρητικότητας.



Εικόνα 31. Βάση στήριξης.

Οι μετρήσεις έγιναν με τον εικονιζόμενο μετρητή LCR με 1kHz συχνότητα δοκιμών.



Εικόνα 32. Ο μετρητής LCR.

Για την αναγνώριση και την παγίδευση των βιομορίων της σεροτονίνης χρησιμοποιήθηκε ο φυσικός υποδοχέας της σεροτονίνης 5-HT_{1B} ο οποίος έχει συζητηθεί στο πρώτο κεφάλαιο. Η επιλογή αυτού του αντισώματος έγινε λόγω της ευρείας διάδοσής του στο εμπόριο σε σχέση με τους υπολοίπους υπότυπους υποδοχέων, λόγω της δυνατότητάς του να συνδέεται με τη σεροτονίνη με ισχυρούς δεσμούς και με μεγάλη επιλεκτικότητα, καθώς και όπως έχει αναφερθεί, είναι ένας από τους πιο μελετημένους υπότυπους υποδοχέων. Το διάλυμα του 5-HT_{1B} εναποτέθηκε πάνω στην επιφάνεια του interdigitated πυκνωτή ο οποίος είχε πρωτύτερα επικαλυφθεί με διάλυμα μιας ουσίας ικανής για την ακινητοποίησή του.

Τα παραπάνω στοιχεία συνθέτουν την εικόνα της ολοκληρωμένης διάταξης, η οποία είναι έτοιμη να μετρήσει την συγκέντρωση της σεροτονίνης.

4.2 Αποτελέσματα

4.2.1 Χωρητικότητα συναρτήσεως του χρόνου για διάλυμα μικρής περιεκτικότητας σεροτονίνης

Πριν την ολοκλήρωση της προσθήκης του διαλύματος του αντισώματος/υποδοχέα 5-HT_{1B}, μετρήθηκε η χωρητικότητα της διάταξης εν κενώ και υπολογίστηκε ίση με 15 pF. Μετά την εναπόθεση του διαλύματος 5-HT_{1B} η χωρητικότητα αυτή τοποθετήθηκε στην τιμή των 1100 pF. Στη συνέχεια, προστέθηκε επάνω στην επιφάνεια ανίχνευσης της ολοκληρωμένης διάταξης, διάλυμα σεροτονίνης 100ng/mL. Χωρίς να μεταβληθεί περαιτέρω η περιεκτικότητα της σεροτονίνης, λήφθηκαν μετρήσεις ανά πέντε δευτερόλεπτα για την χωρητικότητα. Πέντε δευτερόλεπτα μετά, η πρώτη μέτρηση παρουσιάζει διαφορά κατά 30pF στην ένδειξη της χωρητικότητας, ενώ περίπου στο ένα λεπτό μετά η ένδειξη γίνεται 1000pF. Η τιμή της χωρητικότητας με την πάροδο ενός ακόμα λεπτού δεν έχει αλλάξει σημαντικά παραμένοντας κοντά στην προηγούμενη τιμή στα 990 pF, και σε τελική μέτρηση μετά από ακόμα μισό λεπτό η τιμή φαίνεται να έχει σταθεροποιηθεί (ξανά 990 pF). Ωστόσο αυτή η μεταβολή της τάξεως των 110pF είναι ικανή για να αποφανθεί η σωστή λειτουργία του αισθητήρα όσον αφορά την ικανότητά του να ανιχνεύει το βιομόριο-στόχος και για να εξαχθεί ο χρόνος απόκρισης της διάταξης.

Συγκριτική έρευνα με άλλους χωρητικούς βιοαισθητήρες σεροτονίνης δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί λόγω της πρωτοτυπίας της τεχνικής.

Πίνακας 1. Τιμές χωρητικότητας μετά την προσθήκη διαλύματος σεροτονίνης περιεκτικότητας 100ng/mL ανά 5 sec.

Χρόνος (sec)	Χωρητικότητα (pF)
Εν κενώ	15
Προσθήκη αντισωμάτων 5-HT	1100
5	1070
10	1050
15	1035
20	1020
30	1015
40	1005
50	1010
60	1010
70	1010
80	1000
90	1000
100	995
110	995
120	990
130	990
140	985
150	990



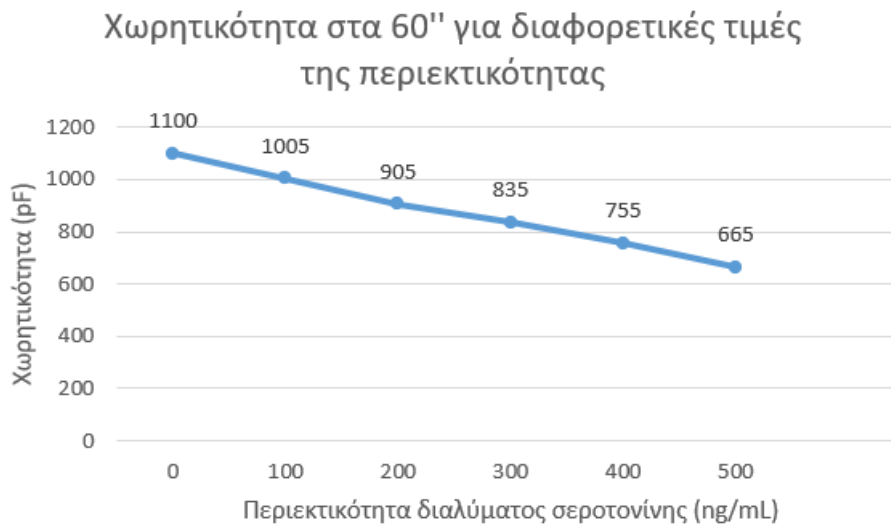
Εικόνα 33. Διάγραμμα χωρητικότητας συναρτήσει του χρόνου μετά την προσθήκη διαλύματος σεροτονίνης 100 ng/ mL.

4.2.2 Χωρητικότητα με αύξηση περιεκτικότητας διαλύματος

Στη συνέχεια οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν με μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σεροτονίνης. Αρχικά, εξακριβώθηκε πως η χωρητικότητα μετά από 60 δευτερόλεπτα εξακολουθεί να έχει την αρχική τιμή των 1100pF χωρίς την προσθήκη σεροτονίνης. Στην συνέχεια, επαναλήφθηκε το πείραμα με την προσθήκη 100ng/mL μέχρι το σημείο των 60 δευτερολέπτων, όπου η απόκλιση με την προηγούμενη μέτρηση ήταν της τάξεως των 5pF, δηλαδή 1005pF. Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν με τον διπλασιασμό της συγκέντρωσης από 100 σε 200ng/mL. Η τιμή της χωρητικότητας στα 60 δευτερόλεπτα κατέληξε στα 905pF. Στα 60 δευτερόλεπτα με τις τιμές 300, 400 και 500 ng/mL, μετρήθηκαν 835, 755 και 665 pF αντίστοιχα. Παρατηρείται πως η χωρητικότητα του πυκνωτή μειώνεται σταθερά με τη μέτρηση διαλύματος μεγαλύτερης περιεκτικότητας. Αυτό ήταν αναμενόμενο και θεμιτό καθώς καταδεικνύει την σωστή λειτουργία του βιοαισθητήρα που αναπτύχθηκε, αφού περισσότερα μόρια μπορούν να συνδεθούν ή να παγιδευτούν από τα μόρια του διαλύματος των αντισωμάτων με συνέπεια αυτή η αντίδραση να αλλάζει τις ηλεκτροχημικές ιδιότητες της διάταξης. Για τις δεδομένες μετρήσεις φαίνεται πως ο κορεσμός δεν επετεύχθη-μέσα και στα πλαίσια της περιορισμένης παροχής σεροτονικού διαλύματος-αλλά η συγκεκριμένη έρευνα είναι ένα μεγάλο βήμα για την ανάπτυξη χωρητικών αισθητήρων για τη μέτρηση της σεροτονίνης. Έτσι όπως παραπάνω εξακριβώθηκε η ικανότητα της διάταξης για ανίχνευση του στόχου, στο παρόν σημείο διαπιστώθηκε η ικανότητα της διάταξης να μετράει τις διαφορετικές ποσότητες της σεροτονίνης. Όπως και προηγουμένως, συγκρίσεις για τη χαρακτηριστική της χωρητικότητας συναρτήσει της συγκέντρωσης του διαλύματος σεροτονίνης δεν δύναται να πραγματοποιηθούν.

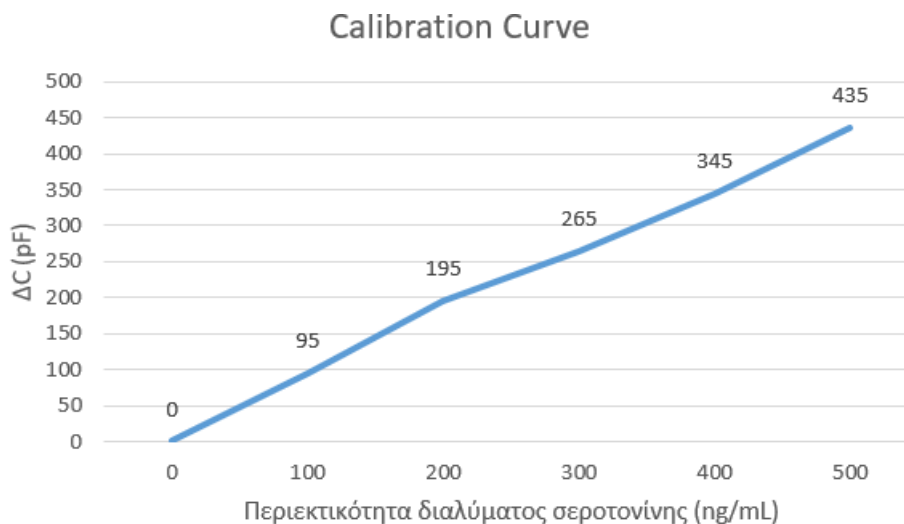
Πίνακας 2. Τιμές χωρητικότητας μετά την προσθήκη διαλυμάτων μεγαλύτερης περιεκτικότητας σεροτονίνης.

Συγκέντρωση 5-HT (ng/mL)	C 60" (pF)
0	1100
100	1005
200	905
300	835
400	755
500	665



Εικόνα 34. Διάγραμμα χωρητικότητας συναρτήσει των τιμών περιεκτικότητας σεροτονίνης στο διάλυμα.

Αν οριστεί ο άξονας των τεταγμένων ως η διαφορά από την C_{blank} , η οποία ορίζεται ως η τιμή πριν την προσθήκη του διαλύματος σεροτονίνης, δηλαδή $\Delta C = C_{blank} - C$ τότε γίνεται να εξαχθεί η χαρακτηριστική εξακρίβωσης των μετρήσεων (calibration curve) όπως αυτή φαίνεται παρακάτω:



Εικόνα 35. Calibration Curve.

Η ευαισθησία (sensitivity) ορίζεται ως η κλίση της παραπάνω χαρακτηριστικής. Η κλίση r για n σύνολο σημείων (x_i, y_i) υπολογίζεται ως:

$$r = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{n \sum(x_i y_i) - \sum x_i \sum y_i}{D} \quad (4.1)$$

$$D = n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2 \quad (4.2)$$

Και η τιμή αυτή για τα συγκεκριμένα δεδομένα υπολογίζεται ως $r = 0.85571$ $\rho F/(\text{ng/mL})$.

Το όριο ανίχνευσης ορίζεται από τη σχέση:

Όπου σ : η τυπική απόκλιση του σήματος εν κενώ δηλαδή 15 ρF .

$$L.O.D = \frac{3\sigma}{r} \quad (4.3)$$

Οπότε, το L.O.D παίρνει την τιμή $L.O.D = 52.58790$ ng/mL . Δεδομένης της μοριακής μάζας της σεροτονίνης στα 176.215 g/mol η παραπάνω τιμή προσδιορίζεται ως $2.98385 \cdot 10^{-7}$ mol/L ή M (M-Molarity-Γραμμομοριακότητα κατ' όγκο) δηλαδή 0.299395 μM ή 290 nM .

Γίνεται εμφανές, πως τα παραπάνω αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά εφόσον επετεύχθη η κατασκευή μίας διάταξης βιοαισθητήρα για τη μέτρηση των διαφορετικών συγκεντρώσεων της σεροτονίνης. Η διάταξη θα μπορούσε να ανιχνεύσει και να παρέχει ενδείξεις για την ποσότητα της σεροτονίνης σε δείγματα προερχόμενα από τον ανθρώπινο οργανισμό, όπως αυτά του αίματος και των ούρων. Αν και τέτοιες μετρήσεις δεν κατέστησαν δυνατές στα περιορισμένα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας, τα αποτελέσματα θα μπορούσαν να δώσουν το έναυσμα για περαιτέρω έρευνες κάνοντας χρήση της εξαιρετικά απλής διάταξης του interdigitated πυκνωτή σε ιατρικά περιβάλλοντα όπως νοσοκομεία και φαρμακολογικά ινστιτούτα.

Στον παρακάτω πίνακα συγκεντρώνονται συνοπτικά τα αποτελέσματα από διάφορες εργασίες για τη μέτρηση της σεροτονίνης. Η πρώτη στήλη αναφέρεται στα υλικά των διατάξεων, η δεύτερη στις τεχνικές των μετρήσεων (οι συντομογραφίες έχουν εξηγηθεί στο προηγούμενο κεφάλαιο) , η τρίτη, τέταρτη και πέμπτη στο γραμμικό εύρος, το όριο ανίχνευσης (limit of detection) και την ευαισθησία των αισθητήρων αντίστοιχα. Η έκτη στήλη αναφέρεται στο βιολογικό δείγμα και η έβδομη σε παρεμβάλλουσες ουσίες.

Πίνακας 3. Πίνακας αποτελεσμάτων για διάφορους αισθητήρες σεροτονίνης [68].

Modifying Material	Detection Technique	Linear Range	LOD	Sensitivity	Real Sample
Screen-printed electrode modified with a mixture of multi-wall nanotubes, aluminium oxide and chitosan MWNTs-Al ₂ O ₃ /chitosan/SPE	SWV	0.01–1 μM	0.005 μM	3.76987 A/M	rat brain
Screen-printed electrode modified with polypyrrole, green iron oxide nanoparticles SPCE-PPy-Fe ₃ O ₄ NPs	CV, SWV	0.007–0.1 μM	0.020 μM	6.36066 μA/μM	banana
Polymelamine modified edge plane pyrolytic graphite sensor EPPGS	CV, SWV, EIS	0.1–100 μM	30 nM	0:088 μA/μM	urine
Graphene encapsulated in an alloy of AuAg AuAg-GR	CV	2.7 nM–4.82 μM	1.6 nM	$0.766 \text{ A} \cdot \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$	human serum
Nanocomposite material SnO ₂ -SnS ₂	CV, SWV, EIS	0.1–700 μM	45 nM	3.179 μA/μM	human blood
Hybrid structure CeO ₂ nanofibers and RuO ₂ nanowires RuO ₂ NWs CeO ₂ NFs	DPV	0.01–150 μM	2.4 nM	4.0642 μA/μM	human cerebrospinal fluid, serum, blood plasma
3-amino-5-mercapto-1, 2, 4-triazole modified GCE AMTA/GCE	CV, DPV	0.001–50 μM	0.0132 nM	0.05 μA/μM	blood plasma
Boron-doped diamond thin-film electrode	CV, HV	0.01–50 μM	10 nM	25 nA/μM	-
Carbon spheres/GCE	DPV	40–750 μM	700 nM	0.09 μA/mM	pharmaceutics
PEDOT modified platinum electrode	CV, LSV	20–100 μM	71 nM	-	urine
Nafion membrane-coated colloidal gold SPE	DPV	0.05–1.0 μM	10.0 nM	0.1495 μA/μM	platelet-rich plasma

Παρατηρείται πως η επικρατούσα τεχνική είναι αυτή της κυκλικής βολταμετρίας ενώ οι εμπεδισιομετρικές τεχνικές όταν υπάρχουν είναι συνοδευτικές. Οι τιμές της ευαισθησίας δεν γίνεται να συγκριθούν άμεσα με τις τιμές του αισθητήρα που αναπτύχθηκε, καθώς η μετρούμενη ποσότητα αναφέρεται σε Ampere. Ωστόσο, για την τιμή του LOD, γίνεται εμφανές με τη σύγκριση με τα αποτελέσματα του πίνακα, πως αν και υπολείπεται των περισσότερων τεχνικών, η διαφορά αυτή δεν είναι αποτρεπτική σαν πρώτο βήμα.

4.3 Πλεονεκτήματα και πιθανές βελτιώσεις της διάταξης

Τα κύρια πλεονεκτήματα της διάταξης αφορούν τη δυνατότητα που παρέχεται στον χρήστη για σχετικά γρήγορες, οικονομικές, ανώδυνες και μη επεμβατικές μετρήσεις. Όλοι οι παραπάνω παράγοντες προϋποτίθενται σε μελέτες για την επίδραση των σεροτονινεργικών συστημάτων στους οργανισμούς αφού απαιτείται η λήψη πολλών μετρήσεων για την δημιουργία ενός ικανά μεγάλου μεγέθους δείγματος που θα επιβεβαιώνει ή θα καταρρίπτει τις διάφορες υποθέσεις που υπάρχουν στη βιβλιογραφία για την επίδραση της σεροτονίνης ή/και άλλων νευροδιαβιβαστών.

Η παρουσία της σεροτονίνης στο αίμα και στα ούρα φαίνεται να είναι σημαντική, όπως και αυτή του παραγώγου της δηλαδή του 5-υδροξυινδολοξικού οξέος (5-HIAA). Συνεπώς, με την εναπόθεση των παραπάνω βιολογικών δειγμάτων στην επιφάνεια του αισθητήρα δύναται η μέτρηση να γίνει μη επεμβατικά. Η επιφάνεια ενός interdigitated βιοαισθητήρα απαιτεί την επαφή με το δείγμα μόνο από τη μία πλευρά, αυτή του πυκνωτή. Συνεπώς δίνεται η δυνατότητα όπως έχει αναφερθεί και στο κεφάλαιο για τα πλεονεκτήματα της χρήσης των interdigitated πυκνωτών, να εκτεθεί το δείγμα σε διάφορες συνθήκες υγρασίας, να εκτίθεται σε άλλα αέρια κ.λπ. με σκοπό να προσομοιάζονται οι συνθήκες που θα μπορούσαν να επικρατούν σε διαφορετικά περιβάλλοντα μέσα στους οργανισμούς. Η εναπόθεση, δεδομένων και των διαστάσεων ενός interdigitated πυκνωτή, θα μπορούσε να γίνει με την χρήση ενός φιαλιδίου όπου θα περιέχεται το βιολογικό δείγμα (αίματος ή ούρων) σε μορφή διαλύματος. Η διαδικασία θα μπορούσε να είναι παρόμοια με αυτή που έγινε γνωστή και κατά την διάρκεια της πανδημίας του COVID-19 με τα αυτοδιαγνωστικά kit (Lateral Flow Test-LFT) όσον αφορά την εναπόθεση του δείγματος, την ευχρηστία της διάταξης και την ικανότητα μεταφοράς της λόγω μικρού μεγέθους με την διαφορά πως η ένδειξη θα ήταν ηλεκτρονική και ποσοτική και θα απαιτούσε την ανάπτυξη ενός μικροκυκλώματος, ενώ η συσκευή θα λειτουργούσε μετά το πάτημα κάποιου κουμπιού.

Η δυνατότητα μη επεμβατικής μέτρησης που παρέχεται από τη διάταξη που αναπτύχθηκε είναι εξέχουσας σημασίας για τις εφαρμογές μέτρησης σεροτονίνης για τη ψυχιατρική υγεία. Όπως και με την περίπτωση του προεγχειρητικού και

μετεγχειρητικού άγχους, ο ασθενής ο οποίος πρόκειται να υποβληθεί σε επεμβατικές μεθόδους - ακόμα και σε ηπιότερης μορφής από αυτήν της εγχείρησης- μπορεί να εκφράσει ψυχολογικές διακυμάνσεις οι οποίες να επηρεάσουν την ακρίβεια της μέτρησης των νευροδιαβιβαστών, που προφανώς είναι ουσίες των οποίων η συγκέντρωση ανατροφοδοτείται από τις περιβάλλουσες συνθήκες διαβίωσης των οργανισμών. Η ψυχολογία ενός ασθενή, που είναι έτοιμος να υποβληθεί σε οποιαδήποτε μέτρηση που θα προσδιορίσει την κατάσταση της υγείας του, το πιθανότερο είναι να παρουσιάσει κάποιες αναπόφευκτες μεταπτώσεις. Για αυτόν τον λόγο είναι παραπάνω από θεμιτό οι μετρήσεις να εξάγονται με ανώδυνους τρόπους ειδικότερα σε περιπτώσεις επίβλεψης της ψυχικής υγείας όπου οι ασθενείς είναι πολύ πιο ευάλωτοι στις συνθήκες του κλινικού περιβάλλοντος και χρειάζονται ιδιαίτερη φροντίδα από τους επιβλέποντες.

Επιπλέον, από τις μετρήσεις έγινε εμφανές πως τα αποτελέσματα εξάγονται σχετικά γρήγορα, γεγονός που ευνοεί τη συνεχή επιτήρηση των τιμών της σεροτονίνης και θα μπορούσε να οδηγήσει σε εφαρμογές πραγματικού χρόνου (real-time) εξαγωγής αποτελεσμάτων σε πιο σύνθετες διατάξεις. Η ταχύτητα εξαγωγής αποτελεσμάτων σε εφαρμογές μέτρησης ουσιών όπως οι νευροδιαβιβαστές είναι κρίσιμης σημασίας παράγοντας, καθώς ενδιαφέρει η βραχυπρόθεσμη συσχέτιση των τιμών της σεροτονίνης, της ντοπαμίνης, της ωκυτοκίνης κ.λπ. με κάποια συμπτώματα ή φαινόμενα που μπορεί να εκδηλωθούν σε ένα μικρό χρονικό διάστημα ή να παρουσιάσουν σημαντικές μεταβολές όπως είναι οι ψυχολογικές μεταπτώσεις. Το παραπάνω προκύπτει από την φύση των νευροδιαβιβαστών ως ουσιών που απελευθερώνονται με τις ηλεκτρικές διεγέρσεις των νευρώνων. Συνεπώς οι συγκεντρώσεις των νευροδιαβιβαστών βρίσκονται σε μια συνεχή και σχετική απροσδιοριστία και για αυτό απαιτούνται εφαρμογές ικανές να δίνουν αποτελέσματα σε ένα διάστημα αρκετά μικρό χρονικά ώστε να μπορεί να συσχετιστεί με ένα αντίστοιχο προσφάτως παρελθόν φαινόμενο.

Επιπροσθέτως, οι διατάξεις μέτρησης της σεροτονίνης δεν είναι αρκετό να αποφαίνονται για την ύπαρξη ή μη της ουσίας πάνω στην αισθητήρια επιφάνεια όπως γίνεται με τις διατάξεις ανίχνευσης ιών όπου ανιχνεύεται η πρωτεΐνη ενός ιού ή τα τεστ εγκυμοσύνης όπου ανιχνεύεται η χοριακή γοναδοτροπίνη (hCG) η οποία

εμφανίζεται μόνο κατά την περίοδο της εγκυμοσύνης. Κατά αντιστοιχία με τους αισθητήρες γλυκόζης, η διάταξη που αναπτύχθηκε για την σεροτονίνη μπορεί να εκφράσει τις ποσοτικές μεταβολές, γεγονός που ανοίγει τον δρόμο για τις έρευνες περί των διαφορετικών συγκεντρώσεων σεροτονίνης σε διάφορους ιστούς και των αντίστοιχων λειτουργιών που επιτελούν ή φαινομένων που προκαλούν.

Όπως και με τους αισθητήρες γλυκόζης, των οποίων η ανάπτυξη έχει φτάσει σε πολύ ικανοποιητικά στάδια, το μικρό σχήμα της διάταξης επιτρέπει την δημιουργία φορητών, ελαφρών και μικρών διαστάσεων συστημάτων που θα είναι σε θέση να παρακολουθούν ανά τακτά χρονικά διαστήματα την υπό εξέταση ουσία. Η περίπτωση της σεροτονίνης, όσον αφορά ένα τέτοιο σύστημα, δεν θα μπορούσε να υποτιμηθεί, καθώς γίνεται ολοένα και πιο σαφές όσο περισσότερο μελετάται η σεροτονίνη, ότι η επίδρασή της στον οργανισμό είναι βαρύνουσας σημασίας οπότε και απαιτείται η παρακολούθησή της μέσα στην ημέρα.

Δεν θα ήταν συνετό να παραληφθεί, επίσης, πως το μικρό σχήμα της διάταξης επιτρέπει την ανάπτυξη επεκτεινόμενων συστημάτων για ταυτόχρονη μέτρηση και των υπολοίπων νευροδιαβιβαστών. Αν και η μέτρηση της ντοπαμίνης δεν μπορεί να γίνει με τη δεδομένη διάταξη εφόσον δεν εμφανίζεται πουθενά κάποιο αντίσωμα για να την παγιδεύσει, το μικρό μέγεθος των διατάξεων interdigitated πυκνωτών επιτρέπει την ανάπτυξη συστοιχιών interdigitated πυκνωτών οι οποίοι θα είναι επενδυμένοι κάθε φορά με διάλυμα αντισωμάτων ειδικό για την ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση ενός νευροδιαβιβαστή ανά πυκνωτή. Με την ταυτόχρονη μέτρηση των νευροδιαβιβαστών, ανοίγει ο δρόμος για ακόμα μεγαλύτερη κατανόηση των νευρολογικών συστημάτων, αφού το ίδιο δείγμα θα μπορεί να υποβληθεί σε ταυτόχρονη μέτρηση για την εξαγωγή της αιτιότητας του με τις λειτουργίες των οργανισμών.

Η ευελιξία που παρέχει ο interdigitated πυκνωτής αφορά και την ικανότητα του να ρυθμίζει την λειτουργία του με την αλλαγή των παραμέτρων του όπως είναι ο αριθμός των δακτύλων N , το πλάτος W και το μήκος L της διάταξης. Περαιτέρω έρευνα πάνω σε εξειδικευμένες εφαρμογές των βιοαισθητήρων με interdigitated μετατροπείς θα μπορούσε να εξακριβώσει τις ιδανικότερες παραμέτρους ανάλογα με την κάθε εφαρμογή. Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας η εφαρμογή διαφόρων

τύπων interdigitated δεν ήταν εφικτή, ωστόσο διάφορες δοκιμές με ρυθμιζόμενες παραμέτρους είναι σίγουρο πως θα επιτύχουν καλύτερα αποτελέσματα και πιο εύρωστες διατάξεις.

Εν κατακλείδι, το σημαντικότερο πλεονέκτημα της διάταξης έγκειται στην ευκολία της αναπαραγωγιότητάς της. Η παραπάνω ιδιότητα της μπορεί να αξιοποιηθεί για την διενέργεια μαζικών μελετών ώστε να ερευνηθούν διεξοδικότερα οι υποθέσεις που αναπτύχθηκαν στο πρώτο κεφάλαιο. Η μελέτη της σεροτονίνης και των άλλων νευροδιαβιβαστών φαίνεται πως βρίσκεται ακόμα σε εμβρυακό στάδιο αν αναλογιστεί κανείς το μέγεθος της πολυπλοκότητας των νευροεγκεφαλικών συστημάτων και την πολυμορφία των επιδράσεων τους. Η πιθανότητα η παρούσα διπλωματική να συμβάλει, έστω και κατά το ελάχιστο, στην ανάπτυξη των μεθόδων για την έρευνα της σεροτονίνης είναι εξαιρετικά τιμητική για όλους τους συντελεστές της.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Μελλοντικές Εργασίες και σχόλια

Η πολύπλευρη φύση της σεροτονίνης και των νευροδιαβιβαστών γενικότερα απαιτεί πολλές έρευνες και μετρήσεις για τον προσδιορισμό των διαφόρων υποθέσεων όσον αφορά τις επιδράσεις τους στον οργανισμό. Σε αυτή την κατεύθυνση η επιστημονική κοινότητα καλείται να επιστρατεύσει μια πληθώρα μεθόδων και διατάξεων μέτρησης ώστε να επιτύχει ή να αναπτύξει τα εξής:

- Αύξηση των ερευνών με αντίστοιχα αυξημένο αριθμό συμμετεχόντων (sample size) για να διερευνηθούν οι παραπάνω αιτιότητες. Προτεινόμενοι αισθητήρες για τέτοιες έρευνες με μεγάλους αριθμούς δειγμάτων είναι οι φθηνοί, φορητοί και ταχείς όπως αυτός που αναπτύχθηκε στην παρούσα διπλωματική.

- Εξειδίκευση των αισθητήρων σεροτονίνης με διαφορετικές διατάξεις οι οποίες θα βασίζονται στην χρήση διαφορετικών βιοϋποδοχέων. Οι επτά μείζονες υπότυποι των υποδοχέων της σεροτονίνης παρουσιάζουν διαφορετική επιλεκτικότητα και η σύνδεση μπορεί να είναι λιγότερο ή περισσότερο ισχυρή ανάλογα το είδος. Αντίστοιχα, οι ηλεκτροχημικές ιδιότητες, με την επιλογή διαφορετικού ligand, φαίνονται να μεταβάλλονται ανάλογα με τον τύπο υποδοχέα.

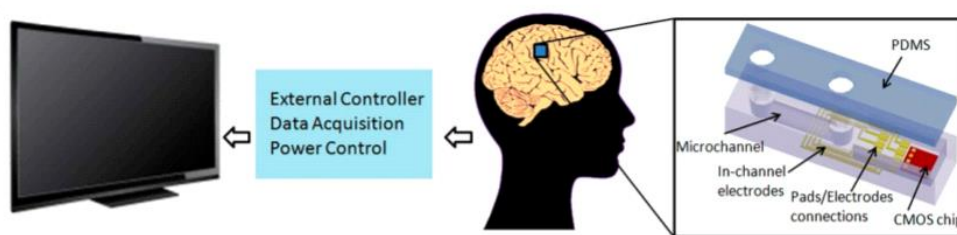
- Περαιτέρω εξειδίκευση των αισθητήρων των σεροτονινεργικών συστημάτων γενικότερα. Εκτός από την μέτρηση της σεροτονίνης αυτής καθαυτής, για την μελέτη των επιδράσεών της στον οργανισμό απαιτείται ο προσδιορισμός της επίδρασης του κάθε υπότυπου υποδοχέων σεροτονίνης αλλά και του παραγώγου της σεροτονίνης, του 5-HIAA. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση κάποιου υπότυπου υποδοχέα της σεροτονίνης σε κάποιους ιστούς μπορεί να εκφράζει διαφορετικά αποτελέσματα για τον οργανισμό. Βεβαίως τα ίδια ισχύουν και για τους υπόλοιπους νευροδιαβιβαστές. Το παραπάνω γεγονός αυξάνει την πολυπλοκότητα της γενικότερης έρευνας εκθετικά και αναδεικνύει τα πλεονεκτήματα και την ανάγκη της μαζικής παραγωγής.

- Ταυτόχρονη μέτρηση και άλλων νευροδιαβιβαστών. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, υπάρχει ανάγκη για έρευνα των νευροεγκεφαλικών συστημάτων στο

σύνολό τους. Συνεπώς, είναι σημαντικό να αναπτύσσονται διατάξεις που να παρέχουν στους ερευνητές τα εργαλεία που είναι απαραίτητα για την σύγκριση των διαφόρων συγκεντρώσεων των νευροδιαβιβαστών ώστε να εξάγονται αποτελέσματα για τις αλληλεπιδράσεις τους. Η διάταξη που αναπτύχθηκε στην παρούσα διπλωματική δεν έχει εγγενώς την ικανότητα για ταυτόχρονη μέτρηση. Ωστόσο υπάρχουν μελέτες στην βιβλιογραφία για διατάξεις που επιτυγχάνουν αυτό ακριβώς πάνω στην ίδια επιφάνεια ανίχνευσης.

-Ανάπτυξη wearable αισθητήρων. Στο χρονικό διάστημα συγγραφής της παρούσας διπλωματικής δεν έχουν αναπτυχθεί εμπορικά συστήματα wearable αισθητήρων για την επιτήρηση της σεροτονίνης ενώ η τεχνολογία των wearables έχει αναπτυχθεί ιδιαίτερα για επιτήρηση των τιμών της γλυκόζης και της κορτιζόλης [67].

-Εμφυτεύσιμες διατάξεις. Αν και όπως αναλύθηκε σε προηγούμενη παράγραφο, οι επεμβατικές τεχνικές θα έπρεπε να αποφεύγονται, αυτό δεν είναι απαραίτητος κανόνας για κάθε συνθήκη. Οι εμφυτεύσιμες διατάξεις έχουν το μεγάλο πλεονέκτημα της συνεχής επιτήρησης χωρίς να παρακωλύουν την καθημερινότητα του χρήστη και μετά από το πέρας κάποιας χρονικής περιόδου ο χρήστης δεν επηρεάζεται από όσα αναφέραμε προηγουμένως. Έχουν αναπτυχθεί εμφυτεύσιμες διατάξεις χωρητικών αισθητήρων CMOS για την μέτρηση της ντοπαμίνης και άλλων νευροδιαβιβαστών [69].



Εικόνα 36. Απλοποιημένο εμφυτεύσιμο σύστημα επιτήρησης τιμών διάφορων νευροδιαβιβαστών σε πραγματικό χρόνο [69].

Εκτός από τις παραπάνω φιλόδοξες βελτιώσεις στα γενικευμένα συστήματα μετρήσεων, απαιτείται και η φαινομενικά πιο μετριοπαθής προσπάθεια της βελτιστοποίησης των τεχνικών χαρακτηριστικών των βιοαισθητήρων. Οι βελτιώσεις στην επιλεκτικότητα, την ευαισθησία και το όριο ανίχνευσης κ.α. των διατάξεων

προϋποθέτουν συνεχή πειραματισμό με νέες τεχνικές ή συνδυασμό αυτών. Στη παρούσα διπλωματική, η ανίχνευση και ο προσδιορισμός της ποσότητας της σεροτονίνης έγινε με την χρήση ενός interdigitated πυκνωτή με την μέθοδο αντισώματος-αντιγόνου όπου το αντίσωμα ήταν ο υποδοχέας 5-HT_{1B}. Στο προηγούμενο κεφάλαιο παρατέθηκαν κάποιες άλλες εργασίες για τη μέτρηση της σεροτονίνης που χρησιμοποιούσαν βολταμετρικές τεχνικές και άλλου τύπου ηλεκτρόδια. Αντιστοίχως, θα μπορούσαν να είχαν αναπτυχθεί οπτικές ή αμπερομετρικές τεχνικές για την επίτευξη της μέτρησης με διαφορετικά χαρακτηριστικά. Με την ανάπτυξη διαφορετικών τεχνικών η βάση της γνώσης της ανθρωπότητας επεκτείνεται, οι μέθοδοι βελτιστοποιούνται και τίθεται η βάση των επιστημονικών ανακαλύψεων.

Επίλογος

Σαν επιπρόσθετο σχόλιο στα παραπάνω αποτελέσματα ο συγγραφέας οφείλει να εκφράσει την εναντίωσή του στις καθαρά μηχανιστικές και ποσοτικές προσεγγίσεις όσον αφορά την αντιμετώπιση των ψυχιατρικών νοσημάτων. Οι παραπάνω μέθοδοι διάγνωσης θα πρέπει να λειτουργούν συνοδευτικά στο έργο των καταρτισμένων επιστημόνων της ψυχικής υγείας. Εφόσον το πρόβλημα των ψυχικών παθήσεων εκδηλώνεται με αυτόν τον βαθμό πολυπλοκότητας που γίνεται εμφανής, τότε το εκάστοτε ερευνητικό σύστημα που ευελπιστεί να αποσαφηνίσει τις αιτίες της εμφάνισης των ψυχικών νόσων, αλλά και οι φορείς που καλούνται να τις αντιμετωπίσουν, έχουν χρέος να λαμβάνουν υπόψιν καθώς και να συμβουλευονται ένα ευρύτερο γνωσιακό και συγκρητιστικό σύστημα, που θα συμπεριλαμβάνει τις ψυχιατρικές αλλά και κοινωνιολογικές πτυχές και προεκτάσεις των ψυχικών νόσων. Ταυτόχρονα θα πρέπει να βρίσκονται σε θέση να εξετάζουν τους πάσχοντες με σεβασμό σύμφυτο με την ανθρώπινη αξιοπρέπεια, μέσα στα πλαίσια της βιοηθικής και σε καμία περίπτωση ως μείγμα ρυθμιζόμενων χημικών ουσιών όπως δογματίζεται από το ρεύμα του Θετικισμού.

Κατά την διάρκεια της συγγραφής της ο υποφαινόμενος είχε την ευκαιρία να γνωριστεί καλύτερα με την επιστημονική μέθοδο αλλά και με ένα εξαιρετικά

ενδιαφέρον θέμα το οποίο ευελπιστεί να αναπτυχθεί προς την σωστή κατεύθυνση, με καθαρή συνείδηση από τους μελετητές του για την αξία και την ουσία της ανθρώπινης ζωής. Η μελέτη και η αναζήτηση των διαφόρων ερευνών η οποία συνέθεσε την εργασία καθώς και η συγγραφή και η ανάπτυξη του αισθητήρα συνετέλεσαν στην δημιουργία ενός πιο ολοκληρωμένου μηχανικού.

Βιβλιογραφία

- [1] Dattani, S., Ritchie, H., Roser, M. (2021) - "Mental Health". Published online at OurWorldInData.org. Retrieved from: '<https://ourworldindata.org/mental-health>' [Online Resource]
- [2] Berger, M., Gray, J.A., Roth, B.L. The expanded biology of serotonin. *Annu Rev Med.* 2009; 60:355-366. doi: 10.1146/annurev.med.60.042307.110802
- [3] Carhart-Harris, R.L, Nutt, D.J. Serotonin and brain function: a tale of two receptors. *JPsychopharmacol.*2017;31(9):1091-1120.doi:10.1177/0269881117725915
- [4] Kerr, C.W. (1994) "The Serotonin Theory of Depression," *Jefferson Journal of Psychiatry*: Vol. 12: Iss. 1, Article 4. DOI: <https://doi.org/10.29046/JJP.012.1.001>
Available at: <https://jdc.jefferson.edu/jeffjpsychiatry/vol12/iss1/4>
- [5] Bleich, A., Brown, S.L., Kahn, R., van Praag, H.M. The role of serotonin in schizophrenia. *Schizophr Bull.* 1988;14(2):297-315. doi:10.1093/schbul/14.2.297
- [6] "Serotonin", Wikipedia. [Online]. Available: <https://en.wikipedia.org/wiki/Serotonin>
[Accessed: 04-Nov-2021]
- [7] Lv Junhua, Liu Feng, The Role of Serotonin beyond the Central Nervous System during Embryogenesis, *Frontiers in Cellular Neuroscience* ,11,2017,pg74, <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fncel.2017.00074>,doi:10.3389/fncel.2017.00074
- [8] Jayamohananan, H., Manoj Kumar, M.K., T P A. 5-HIAA as a Potential Biological Marker for Neurological and Psychiatric Disorders. *Adv Pharm Bull.* 2019;9(3):374-381. doi:10.15171/apb.2019.044
- [9] Hirtz, D., Thurman, D.J., Gwinn-Hardy, K., Mohamed, M., Chaudhuri, A.R., Zalutsky, R. How common are the "common" neurologic disorders? *Neurology.* 2007 Jan 30;68(5):326-37. doi: 10.1212/01.wnl.0000252807.38124.a3. PMID: 17261678.
- [10] Kessler, R.C., Avenevoli, S., Costello, E.J., et al. Design and field procedures in the US National Comorbidity Survey Replication Adolescent Supplement (NCS-A). *Int J Methods Psychiatr Res.* 2009;18(2):69-83. doi:10.1002/mpr.279

[11] “Mental Illness”, NIHM.[Online].

Available: <https://www.nimh.nih.gov/health/statistics/mental-illness.shtml>

[12] Locher, C., Koechlin, H., Zion, S.R., et al. Efficacy and Safety of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors, Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors, and Placebo for Common Psychiatric Disorders Among Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry*. 2017;74(10):1011-1020. doi:10.1001/jamapsychiatry.2017.2432

[13] “Depression Medicines”, U.S. Food and Drug Administration. 18-Nov-2019.[Online].Available:<https://www.fda.gov/consumers/free-publications-women/depression-medicines#SSRI>

[14] Scotton, W. J., Hill, L. J., Williams, A. C., & Barnes, N. M. (2019). Serotonin Syndrome: Pathophysiology, Clinical Features, Management, and Potential Future Directions. *International journal of tryptophan research : IJTR*, 12, 1178646919873925. <https://doi.org/10.1177/1178646919873925>

[15] Lattimore, Keri & Donn, Steven & Kaciroti, Niko & Kemper, Alex & Neal, Charles & Vázquez, Delia. (2005). Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (SSRI) Use during Pregnancy and Effects on the Fetus and Newborn: A Meta-Analysis. *Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association*. 25. 595-604. 10.1038/sj.jp.7211352.

[16] Christ, T., Rozmaritsa, N., Engel, A., Berk, E., Knaut, M., Metzner, K., Canteras, M., Ravens, U., Kaumann, A. Arrhythmias, elicited by catecholamines and serotonin, vanish in human chronic atrial fibrillation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Jul 29;111(30):11193-8. doi: 10.1073/pnas.1324132111. Epub 2014 Jul 14. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Sep 23;111(38):14003. PMID: 25024212; PMCID: PMC4121801.

[17] MacLean, M.M.R. The serotonin hypothesis in pulmonary hypertension revisited: targets for novel therapies (2017 Grover Conference Series). *Pulm Circ*. 2018;8(2):2045894018759125. doi:10.1177/2045894018759125

- [18] Egermayer, P., Town, G. I., Peacock, A. J. (1999). Role of serotonin in the pathogenesis of acute and chronic pulmonary hypertension. *Thorax*, 54(2), 161–168. <https://doi.org/10.1136/thx.54.2.161>
- [19] Kinney, H.C., MD, Haynes R.L., PhD, The Serotonin Brainstem Hypothesis for the Sudden Infant Death Syndrome, *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, Volume 78, Issue 9, September 2019, Pages 765–779, <https://doi.org/10.1093/jnen/nlz062>
- [20] Arbab Sikander, Satya Vati Rana, Kaushal Kishor Prasad, Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome, *Clinica Chimica Acta*, Volume 403, Issues 1–2, 2009, Pages 47-55, ISSN 0009-8981, <https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.01.028>.
- [21] *Σεροτονίνη: Πώς Συνδέεται με τις Λοιμώξεις του Γαστρεντερικού Συστήματος;* (2020, June 11). Γ Παθολογική Κλινική Ερρίκος Ντυνάν Hospital Center. Retrieved February 23, 2021, from <https://pathologia.eu/loimoxeis/serotoninh-pws-syndeetai-me-tis-loimwkseis-tou-gastreuterikou-systhmatos/>
- [22] Hull, E.M., Muschamp, J.W., Sato, S. Dopamine and serotonin: influences on male sexual behavior. *Physiol Behav.* 2004 Nov 15;83(2):291-307. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.08.018. PMID: 15488546.
- [23] Croft, H.A. Understanding the Role of Serotonin in Female Hypoactive Sexual Desire Disorder and Treatment Options, *The Journal of Sexual Medicine*, Volume 14, Issue 12, 2017, Pages 1575-1584, ISSN 1743-6095, <https://doi.org/10.1016/j.jsxm.2017.10.068>.
- [24] Cheng, J.Y. Serotonin Reuptake Inhibitors in Obstructive Sleep Apnea: Associations in People with and without Epilepsy. *Neurol Res Int.* 2018;2018:7247605. Published 2018 Aug 28. doi:10.1155/2018/7247605
- [25] Yabut, J.M., Crane, J.D., Green, A.E., Keating, D.J., Khan, W.I., Steinberg GR, Emerging Roles for Serotonin in Regulating Metabolism: New Implications for an Ancient Molecule, *Endocrine Reviews*, Volume 40, Issue 4, August 2019, Pages 1092–1107, <https://doi.org/10.1210/er.2018-00283>

- [26] *Σεροτονίνη Ούρων - Διαγνωστικές Εξετάσεις / Διαγνωστική Αθηνών*. (n.d.). Διαγνωστική Αθηνών. Retrieved November 5, 2021, from <https://athenslab.gr/diagnostikes-exetaseis/serotonini-ouron-444>
- [27] Cowen, P.J., Browning, M. What has serotonin to do with depression?. *World Psychiatry*. 2015;14(2):158-160. doi:10.1002/wps.20229
- [28] Whitford, G.M. Alzheimer's disease and serotonin: a review. *Neuropsychobiology*. 1986;15(3-4):133-142. doi:10.1159/000118256
- [29] Cross, A.J., Crow, T.J., Ferrier, I.N., Johnson, J.A., Bloom, S.R. and Corsellis, J.A.N. (1984), Serotonin Receptor Changes in Dementia of the Alzheimer Type. *Journal of Neurochemistry*, 43: 1574-1581. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1984.tb06081.x>
- [30] Mdawar, B., Ghossoub, E., Khoury, R. Selective serotonin reuptake inhibitors and Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*. 2020;15(1):41-46. doi:10.4103/1673-5374.264445
- [31] Politis, M., Niccolini, F. Serotonin in Parkinson's disease. *Behav Brain Res*. 2015;277:136-145. doi:10.1016/j.bbr.2014.07.037
- [32] Wilson, H., Dervenoulas, G., Pagano, G., Koros, C., Yousaf, T., Picillo, M., Polychronis, S., Simitsi, A., Giordano, B., Chappell, Z., Corcoran, B., Stamelou, M., Gunn, R.N., Pellecchia, M.T., Rabiner, E.A., Barone, P., Stefanis, L., Politis, M. Serotonergic pathology and disease burden in the premotor and motor phase of A53T α -synuclein parkinsonism: a cross-sectional study, *The Lancet Neurology*, Volume 18, Issue 8, 2019, Pages 748-759, ISSN 1474-4422, [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(19\)30140-1](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(19)30140-1).
- [33] van der Mast, R.C., Fekkes, D. Serotonin and amino acids: partners in delirium pathophysiology?. *Semin Clin Neuropsychiatry*. 2000;5(2):125-131. doi:10.153/SCNP0050012
- [34] Robinson, T.N., Raeburn, C.D., Angles, E.M., Moss, M. Low tryptophan levels are associated with postoperative delirium in the elderly. *Am J Surg*. 2008;196(5):670-4. doi: 10.1016/j.amjsurg.2008.07.007.

- [35] Banki, C.M., Vojnik, M. Comparative simultaneous measurement of cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid and blood serotonin levels in delirium tremens and clozapine-induced delirious reaction. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1978;41(5):420–4. doi: 10.1136/jnnp.41.5.420.
- [36] Ahlman, H. Serotonin and carcinoid tumors. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1985;7 Suppl 7:S79-S85. doi:10.1097/00005344-198500077-00023
- [37] Lynggård, L.A., Nielsen, E.H., Laurberg, P. Carcinoid syndrome caused by a serotonin-secreting pituitary tumour. *Eur J Endocrinol*. 2014;170(2):K5-K9. Published 2014 Feb 1. doi:10.1530/EJE-13-0622
- [38] Sarkar, Parijat & Mozumder, Sukanya & Bej, Aritra & Mukherjee, Sujoy & Sengupta, Jayati & Chattopadhyay, Amitabha. (2020). Structure, dynamics and lipid interactions of serotonin receptors: excitements and challenges. *Biophysical Reviews*. 13. 10.1007/s12551-020-00772-8.
- [39] Rosenbaum, D.M., Rasmussen, S.G., Kobilka, B.K. The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature*. 2009;459(7245):356-363. doi:10.1038/nature08144
- [40] Stiedl, O., Pappa, E., Konradsson-Geuken Å, Ögren SO. The role of the serotonin receptor subtypes 5-HT1A and 5-HT7 and its interaction in emotional learning and memory. *Front Pharmacol*. 2015;6:162. Published 2015 Aug 7. doi:10.3389/fphar.2015.00162
- [41] *Chem. Rev.* 2008, 108, 5, 1614–1641, Publication Date: May 14, 2008 <https://doi.org/10.1021/cr078224o>
- [42] Frazer, A., Hensler, J.G. Serotonin Receptors. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, et al., editors. *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*. 6th edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28234/>
- [43] Yohn, C.N., Gergues, M.M. & Samuels, B.A. The role of 5-HT receptors in depression. *Mol Brain* 10, 28 (2017). <https://doi.org/10.1186/s13041-017-0306-y/>

[44] *A brief look at Biosensors*. Biosensor History - InnovoGENE Biosciences. (n.d.). Retrieved September 6, 2021, from <https://www.innovogene.com/store/pc/viewcontent.asp?idpage=11>.

[45] Chandran Karunakaran, Raju Rajkumar, Kalpana Bhargava, Chapter 1 - Introduction to Biosensors, Editor(s): Chandran Karunakaran, Kalpana Bhargava, Robson Benjamin, Biosensors and Bioelectronics, Elsevier, 2015, Pages 1-68, ISBN 9780128031001, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803100-1.00001>

[46] Θεοδωρίδης, Γ., Γηρούση, Σ., Ζαχαριάδης, Γ., Ζώτου, Α., Σαμανίδου, Β. 2015. Βιοαισθητήρες. [Κεφάλαιο 7ο]. Στο Θεοδωρίδης, Γ., Γηρούση, Σ., Ζαχαριάδης, Γ., Ζώτου, Α., Σαμανίδου, Β. 2015. *Βιοαναλυτική χημεία*. [ηλεκτρ. βιβλ.] Αθήνα: Σύνδεσμος Ελληνικών Ακαδημαϊκών Βιβλιοθηκών. κεφ 7. Διαθέσιμο στο: <http://hdl.handle.net/11419/3673>

[47] Davis, F., Higson, S. Label-Free Immunochemistry Approach to Detect and Identity Antibiotics in Milk. *Pediatr Res* **67**, 476–480 (2010). <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181d61c0c>

[48] Syazana, A.L., Minhaz, U.I., CHAPTER 1: Introduction to Immunosensors , in *Immunosensors*, 2019, pp. 1-20 doi: [10.1039/9781788016162-00001](https://doi.org/10.1039/9781788016162-00001) eISBN: 978-1-78801-616-2

[49] “Explained: Sensor Chips for Surface Plasmon Resonance and Other Applications”, Reichert Technologies. 19-May-2017. [Online]. Available: <https://bitesizebio.com/34644/biosensor-chips-surface-plasmon-resonance/> [Accessed: 7-Nov-2021]

[50] Altintas, Zeynep. (2018). Biosensors and Nanotechnology: Applications in Health Care Diagnostics. 10.1002/9781119065036.

[51] Wanjun Hu, Yunyun Huang, Chaoyan Chen, Yuke Liu, Tuan Guo, Bai-Ou Guan, Highly sensitive detection of dopamine using a graphene functionalized plasmonic fiber-optic sensor with aptamer conformational amplification, *Sensors and Actuators B: Chemical* <https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.03.005>

- [52] Jing, M., Zhang, Y., Wang, H. and Li, Y. (2019), G-protein-coupled receptor-based sensors for imaging neurochemicals with high sensitivity and specificity. *J. Neurochem.*, 151: 279-288. <https://doi.org/10.1111/jnc.14855>
- [53] *Category:biochemistry diagrams*. Wikimedia Commons. (n.d.). Retrieved November 6, 2021, from https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Biochemistry_diagrams.
- [54] Mamishev, Alexander & Sundara-Rajan, Kishore & Yang, Fumin & Du, Yanqing & Zahn, Markus. (2004). Interdigital sensors and transducers. *Proceedings of the IEEE*. 92. 808 - 845. 10.1109/JPROC.2004.826603.
- [55] Amazon.com. 2021. [online] Available at: <<https://www.amazon.com/Interdigitated-Electrodes-Interdigital-Capacitor-5mm-10mm/dp/B07RZ65PKT>> [Accessed 6 November 2021].
- [56] Rahman, A., M.S., Mukhopadhyay, S.C., Yu, P.L. (2014) Novel Planar Interdigital Sensors. In: *Novel Sensors for Food Inspection: Modelling, Fabrication and Experimentation. Smart Sensors, Measurement and Instrumentation*, vol 10. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-04274-9_2
- [57] “Overview of Interdigital Capacitor Designs”, Agilent Technologies. [Online].Available: <https://www.keysight.com/us/en/assets/7018-08093/technical-overviews-archived/5989-8912.pdf> [Accessed: 29-Aug-2021]
- [58] “DESIGN AND OPTIMIZATION OF INTERDIGITAL CAPACITOR”, Beerasha, Khan, A., & Reddy, M. 2016. [Online]. Available: <https://ijret.org/volumes/2016v05/i33/IJRET20160533016.pdf> [Accessed: 29-Aug-2021]
- [59] González, G., Kolosovas-Machuca, E.S., López-Luna, E., Hernández-Arriaga, H., González, F.J. Design and Fabrication of Interdigital Nanocapacitors Coated with HfO₂. *Sensors (Basel)*. 2015;15(1):1998-2005. Published 2015 Jan 16. doi:10.3390/s150101998
- [60] Beck, F. (1995), *Cyclic voltammetry—simulation and analysis of reaction mechanisms*. By David K. Gosser, Jr., VCH, New York 1993, xi, 154 pp., hardcover, DM

124.00, ISBN 3-527-28226-2, disks included (5 1/4" and 3 1/2"). *Electroanalysis*, 7: 298-298. <https://doi.org/10.1002/elan.1140070324>

[61] V. Climent, J.M. Feliu, *Cyclic Voltammetry*, Editor(s): Klaus Wandelt, *Encyclopedia of Interfacial Chemistry*, Elsevier, 2018, Pages 48-74, ISBN 9780128098943, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.10764-4>.

[62] Mirceski, Valentin et al. "RECENT ADVANCES AND PROSPECTS OF SQUARE-WAVE VOLTAMMETRY." *Contributions, Section of Natural, Mathematical and Biotechnical Sciences* (2018): n. pag.

[63] Berggren, C., Bjarnason, B. and Johansson, G. (2001), Capacitive Biosensors. *Electroanalysis*, 13: 173-180. [https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200103\)13:3<173::AID-ELAN173>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200103)13:3<173::AID-ELAN173>3.0.CO;2-B)

[64] Lee, J., Kang, Y., Chang, J., Song, J., Kim, B.K. Determination of Serotonin Concentration in Single Human Platelets through Single-Entity Electrochemistry. *ACS Sens.* 2020;5(7):1943-1948. doi:10.1021/acssensors.0c00267

[65] Cheng Xue, Xi Wang, Wanying Zhu, Qing Han, Chunhong Zhu, Junli Hong, Xuemin Zhou, Huijun Jiang, Electrochemical serotonin sensing interface based on double-layered membrane of reduced graphene oxide/polyaniline nanocomposites and molecularly imprinted polymers embedded with gold nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical*, Volume 196, 2014, Pages 57-63, ISSN 0925-4005, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.01.100>.

[66] Liu, Min & Xiang, Jin & Zhou, Juan & Ding, Hong. (2010). A disposable amperometric sensor for rapid detection of serotonin in the blood and brain of the depressed mice based on Nafion membrane-coated colloidal gold screen-printed electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry - J ELECTROANAL CHEM.* 640. 1-7. [10.1016/j.jelechem.2009.12.020](https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2009.12.020).

[67] Samson, C., & Koh, A. (2020). Stress Monitoring and Recent Advancements in Wearable Biosensors. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 1037. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.01037>

[68] Dascalescu, D.; Apetrei, C. Nanomaterials Based Electrochemical Sensors for Serotonin Detection: A Review. *Chemosensors* 2021, 9, 14. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9010014>

[69] Mirzaei, M., Sawan, M. (2014). Microelectronics-Based Biosensors Dedicated to the Detection of Neurotransmitters: A Review. *Sensors*, 14(10), 17981–18008. [doi:10.3390/s141017981](https://doi.org/10.3390/s141017981)

