



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ  
ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ  
ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΚΑΙ  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

## **Ανάπτυξη Αισθητήρα Μέτρησης Εγκεφαλικού Νατριουρητικού Πεπτιδίου**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**Αρσένη Αλεξάνδρα**

**Επιβλέπων :** Ευάγγελος Χριστοφόρου  
Καθηγητής ΕΜΠ

**Αθήνα, Νοέμβριος 2021**





ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ  
ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΗΛΕΚΤΡΟΛΟΓΩΝ  
ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ  
ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΩΝ, ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗΣ ΚΑΙ  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗΣ

## Ανάπτυξη Αισθητήρα Μέτρησης Εγκεφαλικού Νατριουρητικού Πεπτιδίου

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αρσένη Αλεξάνδρα

**Επιβλέπων :** Ευάγγελος Χριστοφόρου  
Καθηγητής ΕΜΠ

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 19<sup>η</sup> Νοεμβρίου 2021:

.....  
**Ε. Χριστοφόρου**  
Καθηγητής ΕΜΠ

.....  
**Γ. Ματσόπουλος**  
Καθηγητής ΕΜΠ

.....  
**Π. Τσαραμπάρης**  
Επ. Καθηγητής ΕΜΠ

Αθήνα, Νοέμβριος 2021

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

Copyright © Αρσένη Αλεξάνδρα, 2021.  
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 καρδιαγγειακές νόσοι αποτελούν την κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως. Το 2019 17,9 εκατομμύρια άνθρωποι πέθαναν από κάποια καρδιαγγειακή νόσο, ενώ το 85% των θανάτων αυτών οφειλόταν σε έμφραγμα του μυοκαρδίου ή εγκεφαλικό επεισόδιο. Από καρδιακή ανεπάρκεια εκτιμάται ότι υποφέρουν 64 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως, ενώ η νόσος παρουσιάζει τα υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας και νοσηρότητας σε σχέση με τις υπόλοιπες καρδιαγγειακές νόσους. Το κόστος της καρδιακής ανεπάρκειας ανέρχεται στα 108 δισεκατομμύρια δολάρια το χρόνο παγκοσμίως και αναμένεται να αυξηθεί καθώς αυξάνεται ο επιπολασμός της νόσου.

Το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτιδίο βρίσκεται σε αυξημένη συγκέντρωση στο αίμα των ανθρώπων που πάσχουν από καρδιακή ανεπάρκεια και αποτελεί έναν καλό διαγνωστικό και προγνωστικό βιοδείκτη της νόσου που μπορεί να μειώσει τη θνησιμότητα και το κόστος της. Οι τεχνικές μέτρησης BNP που χρησιμοποιούνται αυτή τη στιγμή μπορούν να διεξαχθούν μόνο σε νοσοκομειακό περιβάλλον. Για το λόγο αυτό, η επιστημονική κοινότητα έχει στρέψει το ενδιαφέρον της προς την ανάπτυξη Point of Care συσκευών για τη μέτρηση διαφόρων βιοδεικτών που θα επιτρέπουν την παρακολούθηση της υγείας του ασθενούς στην καθημερινότητά του, εκτός του ιατρείου.

Στην παρούσα διπλωματική, γίνεται αναφορά στη νόσο της καρδιακής ανεπάρκειας και στις κλασικές διαγνωστικές μεθόδους της. Στη συνέχεια, αναλύεται η σημασία του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου για τη διάγνωση και την παρακολούθηση, καθώς και οι τεχνικές μέτρησης του που κυριαρχούν αυτή τη στιγμή. Ακολούθως, παρουσιάζονται οι πιο πρόσφατοι, καινοτόμοι αισθητήρες μέτρησης BNP. Τέλος, αναπτύσσεται χωρητικός αισθητήρας μέτρησης BNP.

## Λέξεις Κλειδιά

Καρδιαγγειακές παθήσεις, Καρδιακή ανεπάρκεια, Εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτιδίο, Έμφραγμα του μυοκαρδίου, Τεχνικές ανίχνευσης βιομορίων, Βιοαισθητήρες, Point of Care συσκευές, Χωρητικός αισθητήρας, Αισθητήρας ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων



## **Abstract**

Cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide. In 2019, 17.9 million people died of cardiovascular disease, while 85% of these deaths were due to myocardial infarction or stroke. Heart failure is estimated to affect 64 million people worldwide, with the disease having the highest mortality and morbidity rates compared to any other cardiovascular disease. The annual economic burden of heart failure is estimated at 108 billion worldwide and is expected to increase as the prevalence of the disease increases.

High concentrations of Brain Natriuretic peptide are found in the blood of people who suffer from heart failure. BNP is a good diagnostic and prognostic biomarker of the disease and its use can improve mortality and cost. The BNP measurement techniques currently in use can only be performed in a hospital setting. For this reason, the scientific community has turned its attention to the development of Point of Care devices for measuring various biomarkers that will allow monitoring of the patient's health in their daily life, outside the doctor's office.

In the present dissertation, we first refer to heart failure and its traditional diagnostic methods. Next, we analyze the importance of brain natriuretic peptide for diagnosis and monitoring and review its current measurement techniques. Next, we report the latest, innovative BNP measurement sensors. Finally, a capacitive BNP sensor is developed.

## **Keywords**

Cardiovascular diseases, Heart Failure, Brain Natriuretic Peptide, BNP, Myocardial infarction, Biomolecule detection techniques, Biosensors, Point of care devices, Capacitive Sensor, Interdigitated electrode sensor





## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Ευάγγελο Χριστοφόρου για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα.

Ευχαριστώ επίσης θερμά τους καθηγητές κύριο Γ.Ματσόπουλο και κύριο Π.Τσαραμπάρη για τη συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή και τις συμβουλές τους.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα Αντώνη Γεωργά για την πολύτιμη καθοδήγηση του κατά την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τις φίλες μου, που με συνόδευσαν όλα αυτά τα χρόνια.



## Περιεχόμενα

Κατάλογος Εικόνων.....	15
Κατάλογος Πινάκων.....	16
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή.....</b>	<b>19</b>
1.1 Κίνητρο της εργασίας.....	19
1.2 Δομή της εργασίας.....	20
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Καρδιακή ανεπάρκεια.....</b>	<b>23</b>
2.1 Γενικές πληροφορίες και στατιστικά για την καρδιακή ανεπάρκεια.....	23
2.1.1 Ορισμός.....	23
2.1.2 Επιπολασμός.....	23
2.1.3 Συχνότητα.....	23
2.1.4 Θνησιμότητα.....	24
2.2 Ταξινόμηση των τύπων της καρδιακής ανεπάρκειας.....	24
2.2.1 Με βάση την τοποθεσία της βλάβης.....	24
2.2.1.1 Δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια.....	24
2.2.1.2 Αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια.....	24
2.2.2 Με βάση το κλάσμα εξώθησης.....	25
2.2.2.1 Καρδιακή ανεπάρκεια με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης.....	25
2.2.2.2 Καρδιακή ανεπάρκεια με μειωμένο κλάσμα εξώθησης.....	26
2.2.2.3 Καρδιακή ανεπάρκεια με μέτριο κλάσμα εξώθησης.....	27
2.3 Αίτια καρδιακής ανεπάρκειας.....	27
2.3.1 Ισχαιμία, Στεφανιαία Νόσος και Έμφραγμα του Μυοκαρδίου.....	27
2.3.1.1 Αθηρωμάτωση των στεφανιαίων αρτηριών.....	28
2.3.1.2 Στεφανιαία νόσος και καρδιακή ανεπάρκεια.....	28
2.3.2 Αρτηριακή υπέρταση.....	29
2.3.3 Σακχαρώδης Διαβήτης.....	29
2.3.4 Άλλες αιτίες.....	30
2.4 Συμπτώματα.....	30
2.5 Κλασικές μέθοδοι διάγνωσης και παρακολούθησης των ασθενών με Κ.Α.....	31
2.5.1 Ηλεκτροκαρδιογράφημα.....	31
2.5.2 Ακτινογραφία θώρακος.....	33
2.5.3 Ηχοκαρδιογραφία.....	34
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Βιοδείκτες και εκγεφαλικό νατρίουρητικό πεπτίδιο.....</b>	<b>37</b>

3.1 Γενικές πληροφορίες .....	37
3.1.1 Ορισμός.....	37
3.1.2 Ιστορία των βιοδεικτών .....	37
3.2 Ταξινόμηση των βιοδεικτών .....	37
3.2.1 Τύποι βιοδεικτών.....	37
3.2.2 Κατηγορίες βιοδεικτών.....	38
3.2.2.1 Προγνωστικοί.....	38
3.2.2.2 Προβλεπτικοί .....	38
3.2.2.3 Διαγνωστικοί.....	38
3.2.2.4 Παρακολούθησης .....	38
3.2.2.5 Απόκρισης.....	39
3.2.2.6 Ασφάλειας .....	39
3.2.2.7 Επιρρέπειας .....	39
3.3 Η σημασία των βιοδεικτών.....	40
3.4 Νατριουρητικά πεπτίδια.....	40
3.4.1 Εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο.....	41
3.4.2 Εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο και καρδιακή ανεπάρκεια .....	42
3.4.2.1 Διάγνωση .....	42
3.4.2.2 Πρόγνωση .....	42
3.4.2.3 Παρακολούθηση.....	43
3.4.2.4 Θεραπεία .....	43
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Βιοαισθητήρες και τεχνικές μέτρησης.....</b>	<b>45</b>
4.1 Αισθητήρες.....	45
4.1.1 Ορισμός.....	45
4.1.2 Ταξινόμηση .....	45
4.1.2.1 Με βάση την ύπαρξη εξωτερικής πηγής .....	45
4.1.2.2 Με βάση την κλίμακα μέτρησης.....	46
4.1.2.3 Με βάση την ενέργεια του διεγείροντος σήματος.....	46
4.1.3 Βιοχημικοί αισθητήρες.....	46
4.1.3.1 Ορισμός.....	46
4.1.3.2 Χαρακτηριστικά .....	47
4.2 Κλασικές μέθοδοι μέτρησης BNP .....	48
4.2.1 Ραδιοανοσολογική.....	48

4.2.2 Φθορίζουσα ανοσολογική.....	49
4.2.3 Ανοσοενζυματική.....	50
4.3 Η ανάγκη για καινοτομία.....	52
4.3.1 SPR αισθητήρας BNP.....	53
4.3.2 Εκτεταμένος Βιοαισθητήρας FET.....	55
4.3.3 Αισθητήρας πολλαπλών βιοδεικτών ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων.....	62
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Ο πυκνωτής ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων.....</b>	<b>67</b>
5.1 Περιγραφή.....	67
5.2 Αναλυτικός υπολογισμός της χωρητικότητας.....	68
5.3 Ο πυκνωτής ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων ως βιοαισθητήρας.....	70
5.4 Μέθοδος κατασκευής των πυκνωτών στο εργαστήριο.....	71
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Μετρήσεις με διάλυμα BNP.....</b>	<b>73</b>
6.1 Μετρήσεις με διάλυμα BNP.....	73
6.1.1 Απόκριση του πυκνωτή στο χρόνο.....	73
6.1.2 Βαθμονόμηση του αισθητήρα.....	77
6.2 Σχόλια και παρατηρήσεις.....	78
6.2.1 Πλεονεκτήματα της διάταξης.....	78
6.2.2 Χρήση της διάταξης για μέτρηση άλλων βιομορίων.....	79
6.2.3 Μειονεκτήματα της διάταξης.....	80
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Επίλογος.....</b>	<b>83</b>
7.1 Σύνοψη και συμπεράσματα.....	83
7.2 Μελλοντική εργασία.....	83
<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>85</b>



## Κατάλογος εικόνων:

Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση της σταδιακής δημιουργίας αθηρωματικής πλάκας.....	28
Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση της τοπολογίας των ηλεκτροδίων για τη μέτρηση των διαφορετικών απαγωγών.....	32
Εικόνα 3: Σχηματική αναπαράσταση του φυσιολογικού ηλεκτροκαρδιογραφήματος. Το κύμα P πρέπει να διαρκεί λιγότερο από 120 msec, το διάστημα PR λιγότερο από 200 msec, το QRS λιγότερο από 110 msec και το QT λιγότερο από 440 msec για να θεωρηθεί το ηλεκτροκαρδιογράφημα ενός ενήλικα φυσιολογικό.....	32
Εικόνα 4: Ακτινογραφία ενός άνδρα 20 ετών με σοβαρή καρδιομεγαλία αριστερής κοιλίας λόγω μη ισχαιμικής καρδιομυσπάθειας.....	34
Εικόνα 5: Τα σημεία διάσπασης των pre-proBNP και proBNP (αριστερά), καθώς και η δομή του BNP (δεξιά).....	41
Εικόνα 6: Αλγόριθμος για τη διάγνωση πιθανής χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Καρδιολογίας. Αν έστω και ένα από το ιστορικό του ασθενούς, τη φυσική εξέταση και το ηλεκτροκαρδιογράφημα παρουσιάζουν ανησυχία, προτείνεται η μέτρηση των BNP και NT-proBNP. Αν η συγκέντρωσή τους βρεθεί κάτω από 35 και 125pg/mL αντίστοιχα, τότε η καρδιακή ανεπάρκεια καθίσταται απίθανη. ....	44
Εικόνα 7: Αναπαράσταση της ραδιοανοσολογικής μεθόδου. Αντισώματα αναμειγνύονται με μη επισημασμένα και με ραδιενεργά επισημασμένα αντιγόνα. Τα δύο είδη αντιγόνων ανταγωνίζονται μεταξύ τους για την πρόσδεση στα αντισώματα. Στη συνέχεια διαχωρίζονται τα αδέσμευτα αντιγόνα από τα δεσμευμένα αντισώματα και μετριέται η ραδιενέργεια.....	48
Εικόνα 8: Σχηματικό διάγραμμα τεσσάρων πιθανών δομών βιομορίων των αισθητήρων φθορισμού. Α: Η δομή αντισώματος-αντιγόνου-αντισώματος με επισημασμένο δευτερεύον αντίσωμα. Β: Επισημασμένα αντιγόνα/αντισώματα ανταγωνίζονται τα αντίστοιχα μη επισημασμένα για τη δέσμευση ενός αντισώματος/αντιγόνου. C: εκτεταμένη δομή με χρήση τρίτου επισημασμένου αντισώματος D: δομή αντισώματος-αντιγόνου-αντισώματος πάνω σε μικροσωματίδιο (quantum dot) με δευτερεύον FRET ζεύγος.....	50
Εικόνα 9: Σχηματική αναπαράσταση των διάφορων τύπων της μεθόδου ELISA. Πάνω αριστερά: άμεσος τύπος. Το αντιγόνο του ασθενούς ακινητοποιείται στην επιφάνεια της πλάκας απευθείας, χωρίς την παρεμβολή κάποιας άλλης ουσίας, και ενώνεται απευθείας με το αντίσωμα που κρατάει το ένζυμο. Πάνω δεξιά: έμμεσος τύπος. Το αντιγόνο συνδέεται με αντίσωμα, το οποίο με τη σειρά του δημιουργεί	

δεσμό με το δευτερεύον αντίσωμα που κρατάει το ένζυμο. Κάτω αριστερά: «sandwich». Το αντιγόνο ακινητοποιείται στην επιφάνεια της πλάκας μέσω αντισώματος. Κάτω δεξιά: ανταγωνιστικός τύπος. Το αντιγόνο του ασθενούς ανταγωνίζεται με ένα αντιγόνο αναφοράς για την δέσμευση των αντισωμάτων.

.....	51
Εικόνα 10: Φωτογραφία των πλακών (ή πηγαδιών) κατά τη διεξαγωγή της μεθόδου ELISA.....	52
Εικόνα 11: Κοινή διάταξη αισθητήρων SPR.....	53
Εικόνα 12: Μετατόπιση του ελάχιστου της έντασης .....	53
Εικόνα 13: Σχηματική αναπαράσταση της δημιουργίας των συζευγμένων νανοσωματιδίων και της λειτουργίας του αισθητήρα .....	54
Εικόνα 14: Γραφική αναπαράσταση της γραμμικής σχέσης μεταξύ της γωνίας SPR και του λογαρίθμου της χωρητικότητας BNP .....	55
Εικόνα 15: Σχηματικό μοντέλο λειτουργικού FET βιοαισθητήρα.....	56
Εικόνα 16: Κατανομή των ιόντων με εφαρμογή θετικής τάσης.....	57
Εικόνα 17: Σχηματική αναπαράσταση της πτώσης τάσης κατά μήκος του ΗΜΕΤ. Η εφαρμοζόμενη τάση στην πύλη μειώνεται κατά μήκος του διαλύματος και του διηλεκτρικού, δημιουργώντας μια χωρητικότητα διαλύματος λόγω διπλού ηλεκτρικού στρώματος ιόντων. Μεταβολές στην χωρητικότητα του διαλύματος επηρεάζουν το ρεύμα εξόδου. ....	58
Εικόνα 18: Αριστερά: Η αύξηση των διαστάσεων του ανοίγματος του ηλεκτροδίου πύλης επιφέρει αύξηση στο ρεύμα υποδοχής. Δεξιά: Η αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ της απόστασης του ηλεκτροδίου πύλης από το ενεργό κανάλι και του ρεύματος υποδοχής.....	59
Εικόνα 19: Η μείωση του ρεύματος υποδοχής με την αύξηση της συγκέντρωσης του διαλύματος NT-proBNP.....	59
Εικόνα 20: Σχηματική αναπαράσταση του EDL FET. Το μέταλλο της πύλης συνδέεται σε ένα ζευγάρι χρυσών ηλεκτροδίων, τα οποία διαχωρίζονται από ένα μικρό κενό. Τα δύο ηλεκτρόδια προσομοιάζουν έναν πυκνωτή, ενώ το ανθρώπινο δείγμα θα αποτελέσει το διηλεκτρικό. Το EDL FET είναι παθητικοποιημένο και τα μόνα ανοίγματα βρίσκονται στα δύο ηλεκτρόδια. Στο ένα ηλεκτρόδιο έχουν ακινητοποιηθεί οι βιο-υποδοχείς, δηλαδή τα αντισώματα BNP, ενώ το άλλο συνδέεται στην πύλη του FET. Το FET δεν έρχεται καθόλου σε επαφή με το διάλυμα.....	60
Εικόνα 21: Φωτογραφία του αισθητήρα χειρός που κατασκευάστηκε.....	60
Εικόνα 22: Σχηματική αναπαράσταση του διαχωρισμού των κυττάρων του αίματος λόγω βαρύτητας..	61



Εικόνα 23: Μέτρηση BNP σε δείγματα ολικού αίματος με συγκεντρώσεις BNP 0, 140, 644, 1570, 2980, 3900 pg/mL για n=3. Αριστερά: η συσκευή στράφηκε προς τα κάτω για πέντε λεπτά. Δεξιά: η συσκευή παρέμεινε στραμμένη προς τα πάνω.....	62
Εικόνα 24: Διατάξεις ηλεκτροδίων. (a) ημικυκλικά ηλεκτρόδια (b) κυκλικά ηλεκτρόδια (c) ορθογώνια διάταξη.....	63
Εικόνα 25: Σχηματική αναπαράσταση των 12 κυκλικών πυκνωτών ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων..	63
Εικόνα 26: Block διάγραμμα της συσκευής και η διαμόρφωση του PCB.....	64
Εικόνα 27: Η ολοκληρωμένη συσκευή. Cartridge ονομάζεται η θήκη στην οποία αποθηκεύονται και προστατεύονται οι πυκνωτές.....	64
Εικόνα 28: Διάγραμμα ροής της λειτουργίας του αισθητήρα.....	65
Εικόνα 29: Σχηματική αναπαράσταση πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων με επικάλυψη μήκους $L_0$ , ύψος $t$ , πλάτος $W_t$ και διάκενο $X_0$ .....	67
Εικόνα 30: Σχηματική αναπαράσταση πυκνωτή παράλληλων πλακών.....	68
Εικόνα 31: Σχηματική αναπαράσταση του πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων με τα πεδία και τις χωρητικότητες που δημιουργούνται. Με $C_f$ συμβολίζονται οι περιθωριακές χωρητικότητες.....	69
Εικόνα 32: (a) Σχηματική αναπαράσταση της δέσμησης του αναλύτη από τον βιο-υποδοχέα πάνω στην επιφάνεια του πυκνωτή. (b) Σχηματική αναπαράσταση ενός πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων.....	70
Εικόνα 33: Τα αρχικά στρώματα της διάταξης. 1. Υπόστρωμα 2. Φωτοευαίσθητη ρητίνη.....	71
Εικόνα 34: Σχηματική αναπαράσταση των σταδίων της οπτικής λιθογραφίας και του Lift off. 1. Υπόστρωμα 2. Φωτοευαίσθητη ρητίνη 3. Στρώμα μετάλλου.....	72
Εικόνα 35: Σχηματική αναπαράσταση της αλλαγής της χωρητικότητας στο χρόνο μετά από εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50pg/mL. Παρατηρείται ότι η χωρητικότητα παραμένει σχετικά σταθερή μετά τα 60''.....	75
Εικόνα 36 Γραφική αναπαράσταση της τιμής της χωρητικότητας του πυκνωτή 60'' μετά την εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50, 100, 150, 200, 250 pg/mL. Παρατηρούμε γνήσια φθίνουσα σχέση μεταξύ των δύο μεγεθών.....	78

## Κατάλογος πινάκων:

Πίνακας 1: Αποτελέσματα μετρήσεων δειγμάτων γνωστών συγκεντρώσεων με τη χρήση του αισθητήρα.....	66
--	----

Πίνακας 2: Μέτρηση της χωρητικότητας του πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων ανά τακτά χρονικά διαστήματα για 150 δευτερόλεπτα μετά την εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50pg/mL.....	74
Πίνακας 3: Οι ενδιάμεσοι και τελικοί υπολογισμοί για τον αριθμητικό μέσο όρο, τον γεωμετρικό, τον αρμονικό, τη διασπορά, την τυπική απόκλιση, το περιθώριο λάθους καθώς και την αβεβαιότητα.....	76
Πίνακας 4: Η μέτρηση της χωρητικότητας του πυκνωτή 60'' μετά την εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50, 100, 150, 200, 250 pg/mL.....	77

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Εισαγωγή

## 1.1 Κίνητρο της εργασίας

Οι καρδιαγγειακές νόσοι αποτελούν την κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως. Το 2019 17,9 εκατομμύρια άνθρωποι πέθαναν από κάποια καρδιαγγειακή νόσο, ενώ το 85% των θανάτων αυτών οφειλόταν σε έμφραγμα του μυοκαρδίου ή εγκεφαλικό επεισόδιο. Από καρδιακή ανεπάρκεια εκτιμάται ότι υποφέρουν 64 εκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως [1], ενώ η νόσος παρουσιάζει τα υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας και νοσηρότητας σε σχέση με τις υπόλοιπες καρδιαγγειακές νόσους [2]. Το κόστος της καρδιακής ανεπάρκειας ανέρχεται στα 108 δισεκατομμύρια δολάρια παγκοσμίως και αναμένεται να αυξηθεί καθώς αυξάνεται ο επιπολασμός της νόσου [1].

Οι κλασικές εξετάσεις οι οποίες συνδέονται με τη διάγνωση και την παρακολούθηση των ασθενών καρδιακής ανεπάρκειας είναι, μεταξύ άλλων, η ακτινογραφία θώρακος, το ηλεκτροκαρδιογράφημα και η ηχοκαρδιογραφία. Όλες οι παραπάνω εξετάσεις απαιτούν για τη διεξαγωγή τους ακριβό και εξειδικευμένο εργαστηριακό εξοπλισμό καθώς και καταρτισμένο προσωπικό. Επιπλέον, η εγκυρότητα των εξετάσεων αυτών εύκολα επηρεάζεται από τεχνικά λάθη, όπως η κινητικότητα του ασθενούς κατά τη διεξαγωγή των εξετάσεων ή η λάθος τοποθέτηση των ηλεκτροδίων κατά το ηλεκτροκαρδιογράφημα. Το αποτέλεσμα των εξετάσεων αυτών συνδέεται επίσης άμεσα με την ερμηνευτική ικανότητα και την πείρα του θεράποντος ιατρού. Ένας άπειρος ιατρός ενδέχεται να παρερμηνεύσει το αποτέλεσμα ή να αμελήσει σημαντικές ενδείξεις νόσησης.

Λόγω των προαναφερθέντων προβλημάτων, η επιστημονική έρευνα έχει προσανατολιστεί στην εύρεση αντικειμενικά μετρήσιμων μεγεθών, των οποίων η τιμή να μπορεί να συσχετισθεί με τη σοβαρότητα ή το στάδιο μιας νόσου, ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος παρερμηνείας των αποτελεσμάτων των εξετάσεων. Τα μεγέθη αυτά ονομάζονται βιοδείκτες. Το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο αποτελεί καλό διαγνωστικό, προβλεπτικό και προγνωστικό βιοδείκτη, τόσο για τα οξεία σύνδρομα καρδιακής ανεπάρκειας, όσο και για τους χρόνιους ασθενείς, και έχει μελετηθεί και χρησιμοποιηθεί ευρέως τα τελευταία χρόνια.

Αυτή τη στιγμή, η μέτρηση του βιοδείκτη είναι δυνατή μόνο σε νοσοκομειακό περιβάλλον. Στις κλασικές τεχνικές μέτρησης BNP συμπεριλαμβάνονται η ραδιοανοσολογική, η φθορίζουσα ανοσολογική και ανοσοενζυματική μέθοδος. Οι παραπάνω τεχνικές μέτρησης απαιτούν ακριβό εργαστηριακό εξοπλισμό, ειδικευμένο προσωπικό για να τις διεξάγει και χρόνο για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων, επομένως δεν επιτρέπουν την παρακολούθηση του ασθενούς σε πραγματικό χρόνο.

Αρκετές έρευνες έχουν δείξει ότι η έκβαση του ασθενούς μπορεί να βελτιωθεί με την τακτική μέτρηση του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου και άλλων βιοδεικτών. Για το λόγο αυτό, η ερευνητική κοινότητα έχει στραφεί στην εύρεση νέων τεχνικών ανίχνευσης βιομορίων με σκοπό τη δημιουργία Point of Care συσκευών, δηλαδή συσκευών που αυτοματοποιούν τη μέτρηση χωρίς να απαιτούν περαιτέρω εργαστηριακό εξοπλισμό.

Οι συσκευές αυτές χρειάζεται να είναι φορητές, ώστε ο ασθενής να μπορεί να μετρήσει ανά πάσα στιγμή τα επίπεδα των βιοδεικτών και να αξιολογήσει αν χρειάζεται να επικοινωνήσει με τον θεράποντα ιατρό του. Φυσικά, αν η συσκευή δεν βγάζει γρήγορα αποτελέσματα, τότε δε διαφέρει πολύ από τις κλασικές τεχνικές μέτρησης. Χρειάζεται, επομένως, να έχει και γρήγορη απόκριση, ώστε να επιτρέπει την παρακολούθηση του ασθενούς σε πραγματικό χρόνο. Τέλος, όλα τα παραπάνω θα ήταν μάταια, αν η τιμή της συσκευής την καθιστούσε απαγορευτική για το ευρύ κοινό, συνεπώς ιδιαίτερη σημασία κατά την ανάπτυξη τέτοιων συσκευών πρέπει να δοθεί στο τελικό κόστος για τον ασθενή.

Στην εργασία αυτή παρουσιάζονται καινοτόμες Point of Care συσκευές μέτρησης BNP και μελετώνται οι αρχές λειτουργίας τους. Επιπλέον, κατασκευάζεται αισθητήρας μέτρησης BNP βασισμένος σε πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων.

## **1.2 Δομή της εργασίας**

Στο κεφάλαιο 2 αναλύεται η νόσος της καρδιακής ανεπάρκειας. Συγκεκριμένα, αναφέρεται ο επιπολασμός, η συχνότητα και η θνησιμότητά της, καθώς και τα αίτια εμφάνισής της. Επιπλέον, αξιολογούνται οι κλασικές διαγνωστικές εξετάσεις που διεξάγονται για την διάγνωση και παρακολούθηση των ασθενών.

Στο κεφάλαιο 3 αναφέρονται οι κατηγορίες των διάφορων βιοδεικτών, καθώς και τα πλεονεκτήματά τους σε σχέση με τις κλασικές διαγνωστικές εξετάσεις. Επιπλέον, αξιολογείται η χρησιμότητα του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου ως διαγνωστικός, προβλεπτικός και προγνωστικός βιοδείκτης για την καρδιακή ανεπάρκεια.

Το κεφάλαιο 4 αφορά τους βιοαισθητήρες. Συγκεκριμένα, αναφέρεται στις κλασικές μεθόδους μέτρησης του BNP και στα μειονεκτήματά τους. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται καινοτόμες δημοσιεύσεις που αφορούν την ανάπτυξη Point of Care συσκευών για την μέτρηση του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου.

Στο κεφάλαιο 5 αναλύονται οι αρχές λειτουργίας των πυκνωτών ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων και ο τρόπος με τον οποίο κατασκευάζονται στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικών Αισθητήρων, καθώς σε έναν τέτοιο πυκνωτή βασίζεται η διάταξη που κατασκευάστηκε.

Στο κεφάλαιο 6 παρουσιάζονται και σχολιάζονται τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από τις μετρήσεις υδατικών διαλυμάτων BNP διαφόρων συγκεντρώσεων με τον αισθητήρα.

Το κεφάλαιο 7 αποτελεί τον επίλογο της εργασίας αυτής και προτείνονται τα πεδία που χρειάζονται περαιτέρω μελέτη και βελτίωση.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Καρδιακή Ανεπάρκεια

### 2.1 Γενικές πληροφορίες και στατιστικά για την καρδιακή ανεπάρκεια

#### 2.1.1 Ορισμός:

Ο όρος “καρδιακή ανεπάρκεια” αναφέρεται στην αδυναμία της καρδιάς να τροφοδοτήσει με επαρκή ποσότητα αίματος τα υπόλοιπα όργανα και αυτή τη στιγμή περιορίζεται σε εκείνα τα στάδια της νόσου που τα συμπτώματα είναι πλέον εμφανή [3]. Η καρδιακή ανεπάρκεια είναι είτε οξεία, όταν τα συμπτώματα είναι ξαφνικά, είτε χρόνια, όταν υπάρχει εξελισσόμενη πορεία.

#### 2.1.2 Επιπολασμός

Ο αριθμός όλων των ασθενών καρδιακής ανεπάρκειας στο γενικό πληθυσμό εκτιμάται στα 3-20 ανά 1000 άτομα, ενώ η εκτίμηση αυτή αυξάνεται με την ηλικία στον αριθμό 30-130 ανά 1000 άτομα για τους άνω των 65 ετών και στον αριθμό 80-160 ανά 1000 άτομα για τους άνω των 75 ετών. Παγκοσμίως, εκτιμάται ότι υποφέρουν από τη νόσο 64 εκατομμύρια άνθρωποι [1]. Στην Ελλάδα, υπολογίζεται ότι υπάρχουν 200.000 ασθενείς. Σύμφωνα με δεδομένα από τα έτη 2009 έως 2012, περίπου 5,7 εκατομμύρια Αμερικανοί πολίτες ηλικίας 20 ετών και άνω έπασχαν από καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ ο αριθμός των ασθενών αυξήθηκε σε 6,2 εκατομμύρια την επόμενη τετραετία. Από το 2012 έως το 2030, ο επιπολασμός της καρδιακής ανεπάρκειας αναμένεται ότι θα αυξηθεί κατά 46% με αποτέλεσμα πάνω από 8 εκατομμύρια αμερικανοί πολίτες 18 ετών και άνω να πάσχουν από τη νόσο. Επιπλέον, το ποσοστό του πληθυσμού με καρδιακή ανεπάρκεια προβλέπεται να αυξηθεί στο 2,97% το 2030 από 2,42% που ήταν το 2012. [4] Η εύρεση νέων θεραπειών και η καλύτερη παρακολούθηση των ασθενών έχουν μειώσει τη θνησιμότητα από τη νόσο και έχουν επομένως αυξήσει τον επιπολασμό.

#### 2.1.3 Συχνότητα:

Το 2014, περίπου 1.000.000 πολίτες άνω των 55 διαγνώστηκαν με καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ για κάθε 1000 πολίτες εμφανίζονται περίπου 1 έως 9 νέα περιστατικά στην Ευρώπη και στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής [5]. Όταν πρόκειται για πληθυσμό άνω των 65 τότε τα νέα περιστατικά ανέρχονται σε 21 ανά 1000 ετησίως [4].

#### **2.1.4 Θνησιμότητα:**

Οι καρδιαγγειακές νόσοι αποτελούν την αιτία για περίπου το 30% των ετήσιων θανάτων παγκοσμίως, με την καρδιακή ανεπάρκεια να παρουσιάζει τα υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας [1]. Συγκεκριμένα, η θνησιμότητα της καρδιακής ανεπάρκειας 5 χρόνια μετά τη διάγνωση είναι περίπου 60% [6,7] γεγονός που την καθιστά πιο «κακοήθη» νόσο και από μερικούς καρκίνους, όπως του γαστρεντερικού από τον οποίο είχε 11% πιο υψηλή θνησιμότητα το 1991 [7]. Το 2011 στις ΗΠΑ η καρδιακή ανεπάρκεια αναφερόταν ως αιτία θανάτου σε περίπου 11% έως 12,5% των πιστοποιητικών θανάτου [4,7]. Η θνησιμότητα 30 ημέρες, 1 χρόνο και 5 χρόνια μετά από τη νοσηλεία του ασθενούς λόγω καρδιακής ανεπάρκειας ανέρχεται σε 10.4%, 22% και 42.3% αντίστοιχα [4]. Τέλος, το ποσοστό θνησιμότητας λόγω Κ.Α. είναι περίπου 3,72 φορές υψηλότερο σε χώρες χαμηλού εισοδήματος και 2,61 φορές υψηλότερο σε χώρες μεσαίου εισοδήματος σε σχέση με τις χώρες υψηλού εισοδήματος.

## **2.2 Ταξινόμηση της καρδιακής ανεπάρκειας:**

### **2.2.1 Με βάση την τοποθεσία της βλάβης:**

#### **2.2.1.1 Δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια:**

Η δεξιά κοιλία αδυνατεί να διοχετεύσει το αίμα στους πνεύμονες, με αποτέλεσμα αυτό να επανέρχεται στις φλέβες οπότε και ο ασθενής παρουσιάζει συμπτώματα που σχετίζονται κυρίως με τη φλεβική στάση, όπως διόγκωση των φλεβών του τραχήλου, διόγκωση του ήπατος και της σπλήνας, οιδήματα στα κάτω άκρα και σπανιότερα συλλογή υγρού στην κοιλιά (ασκίτης) ή και σε όλο το σώμα. Η πιο συχνή αιτία της δεξιάς καρδιακής ανεπάρκειας είναι η αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια [8], ενώ άλλες πιθανές αιτίες αποτελούν καρδιαγγειακές νόσοι, χρόνιες παθήσεις των πνευμόνων κ.α. [9].

#### **2.2.1.2 Αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια:**

Σε αυτήν την περίπτωση η αριστερή κοιλία αδυνατεί να ωθήσει το αίμα στα υπόλοιπα όργανα του σώματος, με αποτέλεσμα το αίμα να συσσωρεύεται στον αριστερή κοιλία, στον αριστερό κόλπο και στους πνεύμονες. Στην περίπτωση αυτή, η συσσώρευση του αίματος στην καρδιά, προκαλεί αύξηση των διαστάσεων της και εξίδρωση υγρού στον περιαγγειακό χώρο των πνευμονικών τριχοειδών, ενώ σε δυσμενέστερες περιπτώσεις εμφανίζεται υγρό και στις κυψελίδες των πνευμόνων. Υπάρχουν δύο είδη



αριστερής καρδιακής ανεπάρκειας, η συστολική, κατά την οποία η κοιλία αδυνατεί να συσταλεί και επομένως να ωθήσει το αίμα στο υπόλοιπο σώμα, και η διαστολική, η οποία προκαλείται από μείωση της ικανότητας της αριστερής κοιλίας για διάταση λόγω ακαμψίας-σκληρίας του μυοκαρδίου, οπότε εισρέει λιγότερη ποσότητα αίματος σ' αυτήν ανάμεσα στις συσπάσεις της [9].

Όταν δυσλειτουργούν και οι δύο κοιλίες, η νόσος ονομάζεται **αμφικουλιακή ή ολική καρδιακή ανεπάρκεια**.

### 2.2.2 Με βάση το κλάσμα εξώθησης:

Η περιγραφή της καρδιακής ανεπάρκειας βασίζεται κυρίως στη μέτρηση του κλάσματος εξώθησης αριστερής κοιλίας (Left Ventricular Ejection Fraction-LVEF), δηλαδή το ποσοστό του όγκου του αίματος που εξωθείται σε κάθε καρδιακό κύκλο από την αριστερή κοιλία. Το LVEF αποτελεί δείκτη της συστολικής απόδοσης της αριστερής κοιλίας και υπολογίζεται από τους τελικούς διαστολικούς και τελικούς συστολικούς όγκους αυτής. Ο τύπος για τον υπολογισμό του EF δίνεται από την εξίσωση (1):

$$LVEF = \frac{EDV - ESV}{EDV} \quad (1)$$

όπου EDV (End Diastolic Volume) ο τελικός διαστολικός όγκος και ESV (End Systolic Volume) ο τελικός συστολικός όγκος της αριστερής κοιλίας, συνήθως σε mL. Η διαφορά ανάμεσα στον τελικό διαστολικό όγκο και στον τελικό συστολικό όγκο ονομάζεται Όγκος Παλμού (ΟΠ, Stroke Volume).

#### 2.2.2.1 Καρδιακή ανεπάρκεια με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης (Heart Failure with Preserved Ejection Fraction - HFpEF):

Σε αυτήν την περίπτωση, το κλάσμα εξώθησης είναι φυσιολογικό, δηλαδή μεγαλύτερο του 50% [3]. Το ποσοστό των ασθενών καρδιακής ανεπάρκειας με HFpEF ποικίλει από 40% έως 71% διότι μέχρι το 2016, οπότε εκδόθηκαν οι νέες οδηγίες από την Ευρωπαϊκή Καρδιολογική Εταιρεία που ορίζουν την HFpEF για EF > 50%, δεν υπήρχε κοινό ελάχιστο του κλάσματος εξώθησης μεταξύ των διαφόρων ερευνών. Στους ασθενείς με HFpEF, η πλειοψηφία των οποίων είναι γυναίκες και ηλικιωμένοι, ο όγκος της αριστερής κοιλίας είναι συνήθως φυσιολογικός, αλλά το τείχος της είναι παχύτερο και δύσκαμπτο και συχνά το μέγεθος του αριστερού κόλπου είναι αυξημένο, γεγονός που υποδεικνύει υψηλότερη πίεση πλήρωσης. [3, 10]. Οι περισσότεροι ασθενείς εμφανίζουν επιπλέον ενδείξεις μειωμένης ικανότητας πλήρωσης της

αριστερής κοιλίας, ή αλλιώς διαστολικής δυσλειτουργίας. Η διαστολική δυσλειτουργία φαίνεται να είναι η κύρια δυσλειτουργία στους ασθενείς με HF<sub>r</sub>EF, όμως έχουν παρατηρηθεί και συστολικές ανωμαλίες στους ίδιους ασθενείς. Για τον λόγο αυτό, η κλινική ταξινόμηση της καρδιακής ανεπάρκειας αναφέρεται στο κλάσμα εξώθησης και όχι σε συστολική ή διαστολική δυσλειτουργία [3]. Διάφορα κριτήρια έχουν προταθεί για την αναγνώριση της HF<sub>r</sub>EF στα οποία περιλαμβάνονται τα κλινικά συμπτώματα καρδιακής ανεπάρκειας, το διατηρημένο ή φυσιολογικό κλάσμα εξώθησης και η διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας. Η διάγνωση της HF<sub>r</sub>EF παρουσιάζει περισσότερες προκλήσεις σε σχέση με τη διάγνωση της HF<sub>s</sub>EF, επειδή βασίζεται κυρίως στον αποκλεισμό άλλων πιθανών μη καρδιακών αιτιών που προκαλούν παρόμοια συμπτώματα με την HF<sub>r</sub>EF. Τη συχνότερη αιτία της HF<sub>r</sub>EF αποτελεί η αρτηριακή υπέρταση με επιπολασμό από 60% έως 89%, όπως έχει προκύψει από επιδημιολογικές μελέτες, πολυπληθείς ελεγχόμενες δοκιμές και ιατρικά μητρώα. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι ένα υποσύνολο των ασθενών με HF<sub>r</sub>EF είχε παλαιότερα διαγνωσθεί με HF<sub>s</sub>EF. Απαιτείται περισσότερη έρευνα για τους συγκεκριμένους ασθενείς, αφού αυτοί ενδέχεται κλινικά να διαφέρουν από εκείνους με μόνιμα μειωμένο ή φυσιολογικό κλάσμα εξώθησης [11].

#### **2.2.2.2 Καρδιακή ανεπάρκεια με μειωμένο κλάσμα εξώθησης (Heart Failure with Reduced Ejection Fraction - HF<sub>r</sub>EF):**

Οι ασθενείς με κλάσμα εξώθησης μικρότερο του 40% πάσχουν από καρδιακή ανεπάρκεια με μειωμένο κλάσμα εξώθησης (HF<sub>r</sub>EF) και μόνο σε αυτήν την κατηγορία ασθενών έχει αποδειχθεί η αποτελεσματικότητα των διαφόρων θεραπειών μέχρι σήμερα. Περίπου το 50% των ασθενών με HF<sub>r</sub>EF παρουσιάζουν αριστερή κοιλία αυξημένου μεγέθους, ενώ εκείνοι με συστολική δυσλειτουργία πολύ συχνά εμφανίζουν και στοιχεία διαστολικής δυσλειτουργίας. Η στεφανιαία νόσος με προηγούμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελεί μια από τις κύριες αιτίες HF<sub>r</sub>EF, αλλά υπάρχουν πολλοί παράγοντες κινδύνου που μπορεί να οδηγήσουν σε διάταση της αριστερής κοιλίας [11]. Ο πληθυσμός των ασθενών με HF<sub>r</sub>EF αποτελείται από νεότερους ασθενείς σε σχέση με τον πληθυσμό HF<sub>s</sub>EF και περιλαμβάνει σε μεγαλύτερο ποσοστό άνδρες [12].

### **2.2.2.3 Καρδιακή ανεπάρκεια με μέτριο κλάσμα εξώθησης (Heart Failure with mid-range Ejection Fraction - HFmrEF)**

Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει τους ασθενείς με κλάσμα εξώθησης αριστερής κοιλίας 40-49% και προτάθηκε το 2016 από την Ευρωπαϊκή Καρδιολογική Εταιρεία προκειμένου να προωθήσει την έρευνα στους ασθενείς ανάμεσα στις κατηγορίες HFrfEF και HFpEF [3]. Τα κλινικά χαρακτηριστικά και οι προγνωστικοί παράγοντες της HFmrEF βρίσκονται ανάμεσα από εκείνα των HFrfEF και HFpEF. Οι ασθενείς με HFmrEF παρουσιάζουν χαμηλότερη θνησιμότητα σε σχέση με τους ασθενείς HFrfEF [13,14] και χαμηλότερο ποσοστό επανανοσηλείας σε σχέση με τους ασθενείς HFpEF [13]. Σύμφωνα με έρευνα της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας, το 65% των ασθενών με HFmrEF έπασχε από ιδιοπαθή διεσταλμένη καρδιοπάθεια, ενώ 20% από ισχαιμική καρδιακή νόσο. Τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών με HFmrEF συνολικά μοιάζουν περισσότερο με αυτά των HFpEF αφού περιλαμβάνουν περισσότερες γυναίκες ασθενείς με ιστορικό αρτηριακής υπέρτασης ή/και κολπικής μαρμαρυγής. Επιπλέον, προτείνεται οι ασθενείς HFmrEF να ακολουθούν παρόμοια φαρμακευτική θεραπεία με τους ασθενείς HFpEF. Παρ' όλα αυτά οι ασθενείς HFmrEF είναι πιο πιθανό να πάσχουν από στεφανιαία αρτηριακή νόσο σε σχέση με τους HFpEF [14].

## **2.3 Αίτια Καρδιακής Ανεπάρκειας:**

Τα αίτια της καρδιακής ανεπάρκειας ποικίλουν τόσο ανά χώρα, όσο και ανά περιοχή, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει συμφωνημένο ενιαίο σύστημα ταξινόμησης τους, με μεγάλη αλληλοεπικάλυψη μεταξύ των πιθανών κατηγοριών. Πολλοί ασθενείς που τελικά διαγνώστηκαν με καρδιακή ανεπάρκεια πάσχουν από διάφορες παθήσεις, καρδιαγγειακές και μη. Η ταυτοποίηση των διαφόρων υποκείμενων ασθενειών είναι μείζονος σημασίας για την ιατρική θεραπεία που θα ακολουθηθεί [3]. Στη συνέχεια θα αναφερθούν οι κυριότερες παθήσεις, καρδιαγγειακές και μη, που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την καρδιακή ανεπάρκεια.

### **2.3.1 Ισχαιμία, Στεφανιαία Νόσος και Έμφραγμα του Μυοκαρδίου:**

Μυοκαρδιακή ισχαιμία ονομάζεται η παθολογική κατάσταση κατά την οποία η στεφανιαία ροή αδυνατεί να καλύψει τις ανάγκες του μυοκαρδίου σε οξυγόνο με αποτέλεσμα να προκαλείται βλάβη στο μυοκάρδιο η οποία μερικές φορές είναι μη αναστρέψιμη.

### 2.3.1.1 Αθηρωμάτωση των στεφανιαίων αρτηριών:

Την πιο συχνή αιτία μυοκαρδιακής ισχαιμίας αποτελεί η αθηρωμάτωση των επικαρδιακών στεφανιαίων αρτηριών, δηλαδή η ανάπτυξη αθηρωματικής πλάκας στον εσωτερικό χιτώνα των στεφανιαίων αρτηριών με αποτέλεσμα την πάχυνση του τοιχώματος του αγγείου και στένωση του αυλού του [9]. Η αθηρωματική πλάκα δημιουργείται από τη συσσώρευση λιποπρωτεϊνών και ανοσοκυττάρων, που αποτελούν τον πυρήνα της, και ινώδους ιστού που την περιβάλλει [9,15]. Ο ρυθμός σχηματισμού της αθηρωματικής πλάκας ποικίλλει τόσο μεταξύ ασθενών, όσο και στον ίδιο ασθενή σε διαφορετικές χρονικές περιόδους της ζωής του, αφού μπορεί να αναπτύσσεται βραδέως για πολλά χρόνια χωρίς εμφανή συμπτώματα ή να συσσωρεύεται με ταχείς ρυθμούς [9]. Όταν η στένωση των στεφανιαίων αρτηριών ξεπεράσει το 60% και σε συνθήκες αυξημένης καρδιακής συχνότητας, η στεφανιαία ροή περιορίζεται και αδυνατεί να καλύψει τη ζήτηση του μυοκαρδίου σε οξυγόνο. Η κατάσταση αυτή εκδηλώνεται στον ασθενή με σταθερή στηθάγχη, δηλαδή πόνο και δυσφορία στο κέντρο του θώρακα [8,9]. Συχνή επιπλοκή της αθηρωμάτωσης αποτελεί η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας που οδηγεί στη δημιουργία θρόμβου, ο οποίος, λόγω της μικρής διαμέτρου των στεφανιαίων αρτηριών, αρκεί για να τις φράξει. Στην περίπτωση αυτή ο ασθενής εκδηλώνει ασταθή στηθάγχη σε συνθήκες ηρεμίας. Αν η κυκλοφορία του αίματος δεν επανέλθει σύντομα τότε επέρχεται θάνατος των καρδιακών κυττάρων, δηλαδή έμφραγμα του μυοκαρδίου. Στην εικόνα 1 φαίνεται η σταδιακή στένωση στεφανιαίου αγγείου.



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση της σταδιακής δημιουργίας αθηρωματικής πλάκας, μέχρι τη δημιουργία θρόμβου από αριστερά προς τα δεξιά [9].

### 2.3.1.2 Στεφανιαία Νόσος και Καρδιακή ανεπάρκεια

Στις αναπτυγμένες χώρες, η μυοκαρδιακή ισχαιμία αποτελεί κύριο παράγοντα κινδύνου καρδιακής ανεπάρκειας σε ποσοστό 50% των περιστατικών στην Ευρώπη και στην Αμερική, 30%-40% στην Ασία, τη Λατινική Αμερική και την Καραϊβική και λιγότερο από 10% στην Υποσαχάρια Αφρική [16]. Την κύρια αιτία καρδιακής ανεπάρκειας στις αναπτυγμένες χώρες και για τα δύο φύλα αποτελεί η Στεφανιαία Νόσος [8]. Ταυτόχρονα, εμπλέκεται τόσο στους ασθενείς με μειωμένο κλάσμα εξώθησης όσο και στους ασθενείς με

διατηρημένο [8,16], και ενδέχεται να συμβάλει εξίσου στη συστολική και στη διαστολική δυσλειτουργία [16]. Επιπρόσθετα, η καρδιακή ανεπάρκεια συνιστά συχνή επιπλοκή του εμφράγματος μυοκαρδίου [8,16,17], με συχνότητα εμφάνισης που εκτιμάται από 10% έως 40% [17] και εξαρτάται από το μέγεθος και την τοποθεσία του εμφράγματος και τη σοβαρότητα της στεφανιαίας νόσου [16]. Επιπλέον η εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας έπειτα από έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα [8,16,17] με μέσο χρόνο επιβίωσης τα 4 έτη [17].

### **2.3.2 Αρτηριακή υπέρταση:**

Η αρτηριακή πίεση περιλαμβάνει δύο μετρήσεις, τη συστολική και τη διαστολική, που εξαρτώνται από το εάν ο καρδιακός μυς συστέλλεται (συστολή) ή χαλαρώνει μεταξύ των παλμών (διαστολή). Η υπέρταση ορίζεται ως μόνιμα αυξημένη αρτηριακή πίεση πάνω από το φυσιολογικό όριο των 120/80 mmHg. Υπάρχουν δύο είδη υπέρτασης: η πρωτοπαθής, η οποία εμφανίζεται χωρίς την ταυτοποίηση κάποιας υποκείμενης νόσου και οφείλεται κυρίως στον τρόπο ζωής του ασθενούς, και η δευτεροπαθής, η οποία οφείλεται στην ύπαρξη κάποιας υποκείμενης νόσου, όπως οι εκ γενετής ανωμαλίες των αιμοφόρων αγγείων. Περίπου το 90–95% των περιπτώσεων κατηγοριοποιούνται ως πρωτοπαθής [18]. Η υψηλή αρτηριακή πίεση αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την καρδιακή ανεπάρκεια, το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το εγκεφαλικό κ.α. Τα  $\frac{3}{4}$  όλων των ασθενών καρδιακής ανεπάρκειας πάσχουν από προϋπάρχουσα υπέρταση, ενώ η διάγνωση υψηλής αρτηριακής πίεσης από μόνη της διπλασιάζει τον κίνδυνο καρδιακής ανεπάρκειας σε σύγκριση με τους νορμοτασικούς ασθενείς [19]. Η υψηλή αρτηριακή πίεση και η στεφανιαία νόσος αλληλεπιδρούν μεταξύ τους αυξάνοντας τον κίνδυνο καρδιακής ανεπάρκειας [8]. Επιπλέον, η υψηλή αρτηριακή πίεση αποτελεί την κύρια αιτία εγκεφαλικού επεισοδίου παγκοσμίως [20].

### **2.3.3 Σακχαρώδης Διαβήτης:**

Ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελεί πλέον παγκόσμια επιδημία με 422 εκατομμύρια ασθενείς έως το 2014, ενώ εκτιμάται ότι το 2040 ο αριθμός αυτός θα έχει φτάσει τα 700 εκατομμύρια [21]. Ο σακχαρώδης διαβήτης σχετίζεται με διπλή έως τετραπλή αύξηση της πιθανότητας εμφάνισης καρδιαγγειακών παθήσεων, και διπλή έως πενταπλή αύξηση του κινδύνου ανάπτυξης καρδιακής ανεπάρκειας σε σχέση με τους μη διαβητικούς ασθενείς [21]. Οι διαβητικοί άνδρες μεταξύ 45 και 74 ετών έχουν υπερδιπλάσια συχνότητα εμφάνισης συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας, ενώ οι διαβητικές γυναίκες πενταπλή, σε σχέση με τους μη διαβητικούς ασθενείς. Αυτή η υπέρμετρη αύξηση του κινδύνου καρδιακής ανεπάρκειας δεν οφείλεται μόνο στην επιταχυνόμενη ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου που προκαλεί ο σακχαρώδης διαβήτης, αφού ακόμα και όταν τα δεδομένα των ασθενών με προϋπάρχουσα στεφανιαία

νόσο εξαιρέθηκαν, οι διαβητικοί ασθενείς συνέχισαν να εμφανίζουν τετραπλό έως πενταπλό κίνδυνο ανάπτυξης συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας [22]. Αντίστροφα, η συχνότητα εμφάνισης του σακχαρώδους διαβήτη σε ασθενείς νοσηλευόμενους για καρδιακή ανεπάρκεια με μειωμένο κλάσμα εξώθησης είναι υψηλή. Τέλος, η θνησιμότητα σε ασθενείς διαγνωσμένους με διαβήτη και καρδιακή ανεπάρκεια είναι σχεδόν δέκα φορές υψηλότερη σε σχέση με τη θνησιμότητα ασθενών που πάσχουν μόνο από σακχαρώδη διαβήτη. Τα παραπάνω ευρήματα υπογραμμίζουν τη σημασία της αλληλεπίδρασης μεταξύ του σακχαρώδους διαβήτη και της καρδιακής ανεπάρκειας [21].

#### **2.3.4 Άλλες αιτίες:**

Λιγότερο συχνά, αλλά σοβαρά αίτια της καρδιακής ανεπάρκειας κατά φθίνουσα σειρά επιπολασμού είναι οι καρδιομυοπάθειες, λοιμώξεις όπως η ιική μυοκαρδίτιδα και η ασθένεια Chagas, η χρήση τοξικών ουσιών, όπως αλκοόλ ή κυτταροτοξικών φαρμάκων, η βαλβιδική νόσος και οι παρατεταμένες αρρυθμίες [23].

### **2.4 Συμπτώματα της νόσου:**

Το πιο συχνό σύμπτωμα της αριστερής καρδιακής ανεπάρκειας αποτελεί η δύσπνοια. Συνήθως, η πρώτη εκδήλωση του συμπτώματος γίνεται κατά τη σωματική άσκηση, ενώ σταδιακά χειροτερεύει και εξελίσσεται σε ορθόπνοια (ευαισθησία 22% και ειδικότητα 74-77% [10]). Το επόμενο στάδιο είναι η νυχτερινή παροξυσμική δύσπνοια [24] (ευαισθησία 39-42% και ειδικότητα 80-84% [10]), η οποία αποτελεί έναν από τους πιο αξιόπιστους δείκτες καρδιακής ανεπάρκειας [8], και τέλος, δύσπνοια σε ηρεμία [24]. Παρ' όλα αυτά, δεδομένου ότι οι ασθενείς προσαρμόζουν τον τρόπο ζωής τους ανάλογα με τα συμπτώματα που αντιμετωπίζουν, η απουσία δύσπνοιας που σταδιακά επιδεινώνεται δεν αποκλείει την καρδιακή ανεπάρκεια [8]. Ταυτόχρονα, η δύσπνοια σε ηρεμία παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία και σημαντικές προγνωστικές επιπτώσεις στους νοσηλευόμενους ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ η ειδικότητά της είναι χαμηλή, επειδή συνιστά συχνό σύμπτωμα πολλών διαφορετικών παθήσεων [8]. Χρόνιος, μη παραγωγικός βήχας είναι επίσης πιθανό να εμφανιστεί, κυρίως όταν ο ασθενής βρίσκεται σε οριζόντια θέση [8,24]. Η κόπωση αποτελεί επίσης ένα πολύ συχνό, αλλά μη ειδικό σύμπτωμα της καρδιακής ανεπάρκειας. Όσον αφορά τη δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια στα συμπτώματα περιλαμβάνονται η κατακράτηση υγρών υπό τη μορφή οιδημάτων, η συμφόρηση του ήπατος, η απώλεια όρεξης και η ναυτία λόγω οιδήματος του εντέρου [8,24]. Στα προχωρημένα στάδια της νόσου παρατηρούνται, μεταξύ

άλλων, ταχυκαρδία (ευαισθησία 7% και ειδικότητα 99% [10]) και οίδημα κάτω άκρων (ευαισθησία 10% και ειδικότητα 93% [10]), Οι ασθενείς με οξεία καρδιακή ανεπάρκεια λόγω εμφράγματος του μυοκαρδίου ή κάποιας άλλης αιτίας συνήθως εμφανίζουν πνευμονικό οίδημα [24]. Κανένα από τα παραπάνω συμπτώματα δεν εμφανίζει ικανοποιητική ειδικότητα όσον αφορά το διαχωρισμό μεταξύ της HF<sub>r</sub>EF και της HF<sub>p</sub>EF [8].

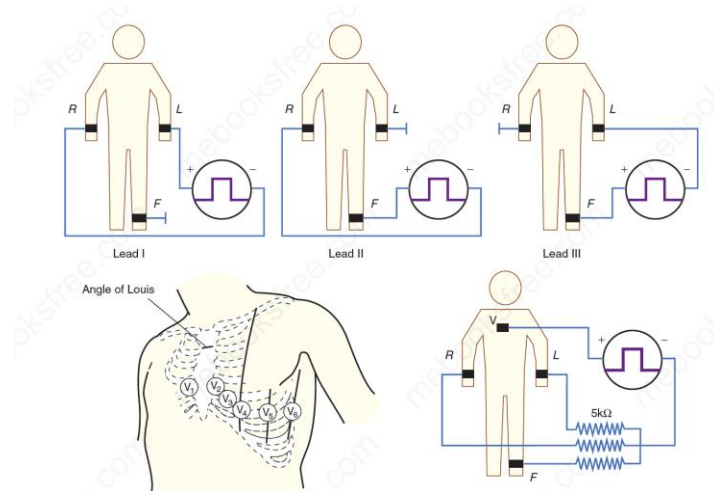
## **2.5 Κλασικές μέθοδοι διάγνωσης και παρακολούθησης των ασθενών με Κ.Α.:**

### **2.5.1 Ηλεκτροκαρδιογράφημα (ΗΚΓ):**

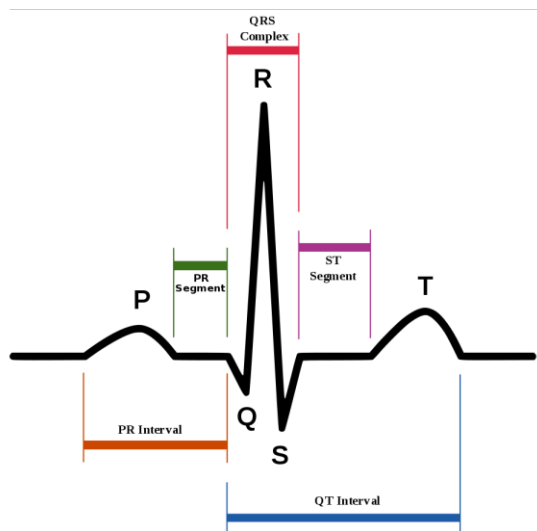
Ήδη από το 1910 το ηλεκτροκαρδιογράφημα είχε ενταχθεί στην κλινική ιατρική και πολύ σύντομα έγινε η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη καρδιακή εξέταση. Παρόλο που έχουν αναπτυχθεί και άλλες τεχνικές για την αξιολόγηση της καρδιακής δομής και λειτουργίας, το ηλεκτροκαρδιογράφημα παραμένει η θεμελιώδης μέθοδος για την αξιολόγηση της ηλεκτρικής δραστηριότητας της καρδιάς.

#### **Θεμελιώδεις Αρχές του ΗΚΓ:**

Το ΗΚΓ είναι το αποτέλεσμα μιας σειράς περίπλοκων φυσιολογικών και τεχνολογικών διαδικασιών. Αρχικά, οι ροές των ιόντων που διέρχονται μέσα από τις κυτταρικές μεμβράνες γειτονικών κυττάρων δημιουργούν ιοντικά ρεύματα, τα οποία συγχρονίζονται κατά την εναλλάξ καρδιακή ενεργοποίηση και χαλάρωση του μυοκαρδίου και δημιουργούν ένα μεταβλητό ως προς τον χρόνο ηλεκτρικό πεδίο μέσα και γύρω από το μυοκάρδιο. Το πεδίο αυτό μεταβάλλεται καθώς διέρχεται μέσα από τις διαφορετικές δομές του ανθρώπινου οργανισμού, όπως οι πνεύμονες και το αίμα. Για την παραγωγή του ΗΚΓ τοποθετούνται τέσσερα ηλεκτρόδια στα άκρα του ασθενούς και έξι στον κορμό. Σε κάθε μέτρηση, ένα ηλεκτρόδιο ορίζεται ως η θετική είσοδος και ένα, ή περισσότερα ηλεκτρόδια συνδεδεμένα, ως η αρνητική και καταγράφεται η διαφορά δυναμικού τους. Η έξοδος που λαμβάνεται από τα ηλεκτρόδια ενισχύεται, φιλτράρεται, ψηφιοποιείται και αποτυπώνεται στο χαρτί. Αλλάζοντας το ηλεκτρόδιο θετικής ή/και αρνητικής εισόδου λαμβάνεται μια διαφορετική “οπτική γωνία” ή απαγωγή του. Με τη συσκευή του ηλεκτροκαρδιογράφου λαμβάνονται 12 οπτικές γωνίες ή απαγωγές της μεταβολής του ηλεκτρικού δυναμικού. Συχνά, το αποτέλεσμα του ΗΚΓ εισάγεται σε λογισμικό αναγνώρισης προτύπων με σκοπό την παροχή μιας προκαταρκτικής ερμηνείας [8]. Στην εικόνα 2 φαίνεται η τοπολογία των τοποθετούμενων ηλεκτροδίων και στην εικόνα 3 αναπαρίσταται το φυσιολογικό ηλεκτροκαρδιογράφημα.



Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση της τοπολογίας των ηλεκτροδίων για τη μέτρηση των διαφορετικών απαγωγών [8].



Εικόνα 3: Σχηματική αναπαράσταση του φυσιολογικού ηλεκτροκαρδιογραφήματος. Το κύμα P πρέπει να διαρκεί λιγότερο από 120 msec, το διάστημα PR λιγότερο από 200 msec, το QRS λιγότερο από 110 msec και το QT λιγότερο από 440 msec για να θεωρηθεί το ηλεκτροκαρδιογράφημα ενός ενήλικα φυσιολογικό [25].

### Κλινικές ενδείξεις για τη διεξαγωγή ΗΚΓ:

Λόγω της φαινομενικής απλότητας, της ασφάλειας, και του χαμηλού κόστους διεξαγωγής ενός ΗΚΓ, λίγη προσοχή έχει δοθεί στις κλινικές ενδείξεις τους ασθενούς που πρέπει να πληρούνται για την πραγματοποίησή του. Τόσο η ψευδώς θετική όσο και η ψευδώς αρνητική διάγνωση καρδιοπάθειας



μπορεί να προκαλέσουν σοβαρό κίνδυνο για τον ασθενή. Για τους λόγους αυτούς, πλέον δε συνίσταται η διεξαγωγή ΗΚΓ σε ασυμπτωματικούς ασθενείς, με σκοπό να μειωθεί η κατάχρηση του. Ταυτόχρονα, έχει παρατηρηθεί ότι λιγότερο από τα  $\frac{2}{3}$  των ιατρικών υπηρεσιών έκτακτης ανάγκης διεξάγουν ΗΚΓ σε περιπτώσεις πιθανού εμφράγματος του μυοκαρδίου παρόλο που είναι γενικά αποδεκτό πως η διεξαγωγή του βελτιώνει το τελικό αποτέλεσμα [8].

#### **ΗΚΓ και καρδιακή ανεπάρκεια:**

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Καρδιολογίας, προτείνεται το ΗΚΓ να συμπεριλαμβάνεται στη διαγνωστική διαδικασία των ασθενών με πιθανή Κ.Α. Στο ηλεκτροκαρδιογράφημα μπορούν να παρατηρηθούν ανωμαλίες όπως η υπερτροφία αριστερής κοιλίας [26], ενδείξεις ενός προηγούμενου εμφράγματος του μυοκαρδίου ή υποκείμενης ταχυκαρδίας [24,26]. Ένα ΗΚΓ με ανωμαλίες έχει σχετικά υψηλή ευαισθησία για τη διάγνωση της Κ.Α. (89%), αλλά μέτρια ειδικότητα (56%). Επομένως, ένα απολύτως φυσιολογικό ΗΚΓ μειώνει αρκετά τις πιθανότητες για Κ.Α. [26]

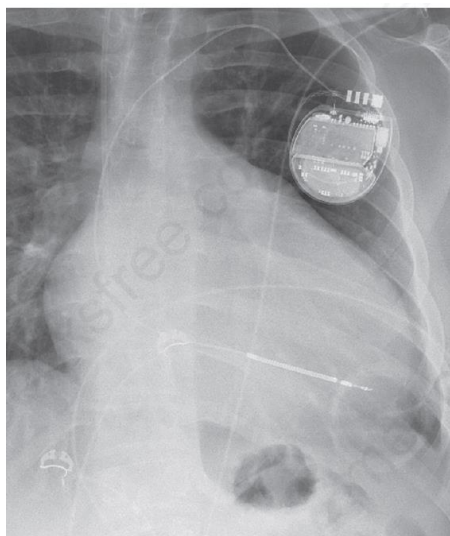
#### **2.5.2 Ακτινογραφία Θώρακος:**

Η ακτινογραφία θώρακος είναι η πιο συχνή απεικονιστική εξέταση. Πρόκειται για μια άμεσα διαθέσιμη, σχετικά φθηνή εξέταση και με χαμηλότερη δόση ιονίζουσας ακτινοβολίας σε σχέση με την αξονική τομογραφία και την αγγειογραφία.

#### **Ακτινογραφία θώρακος και καρδιακή ανεπάρκεια:**

Μια χρήσιμη πληροφορία που εξάγεται από την ακτινογραφία θώρακος είναι ο καρδιοθωρακικός δείκτης (CardioThoracic Ratio). Πρόκειται για τον λόγο της διαμέτρου της καρδιακής σκιάς στην ακτινογραφία, προς τη μεγαλύτερη διάμετρο του θωρακικού κλωβού. Αν ο λόγος αυτός είναι μεγαλύτερος του 0,5 τότε υπάρχει καρδιομεγαλία, η οποία αποτελεί ένδειξη καρδιακής ανεπάρκειας. Παρ' όλα αυτά, η καρδιομεγαλία δεν αποτελεί αναγκαία συνθήκη για τη διάγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας, αφού περίπου το  $\frac{1}{3}$  των ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια παρουσιάζουν φυσιολογικό καρδιοθωρακικό δείκτη. Ταυτόχρονα, ένας αυξημένος καρδιοθωρακικός δείκτης δε συνεπάγεται απαραίτητα καρδιακή ανεπάρκεια, γι' αυτό και στους ασθενείς με πιθανή καρδιακή ανεπάρκεια ενδείκνυται περαιτέρω έρευνα μέσω ηχοκαρδιογραφίας. Στους ασθενείς που έχουν διαγνωστεί με καρδιακή ανεπάρκεια, η καρδιομεγαλία αποτελεί δυσμενή προγνωστικό παράγοντα [27]. Επιπλέον, στην ακτινογραφία θώρακος εμφανίζονται, αν υπάρχουν, πνευμονικά οιδήματα, τα οποία ενδέχεται να είναι καρδιακής αιτιολογίας, δηλαδή να οφείλονται στην αδυναμία της αριστερής κοιλίας να ωθήσει το αίμα

στον κυκλοφορία [24]. Επιπρόσθετα, αποτιμάνωση των στεφανιαίων αρτηριών συχνά ανακαλύπτεται τυχαία στις ακτινογραφίες θώρακος. Όσον αφορά το έμφραγμα του μυοκαρδίου, περίπου οι μισοί ασθενείς θα εμφανίσουν φυσιολογική ακτινογραφία [8]. Μια ακτινογραφία θώρακος με ανωμαλίες παρουσιάζει 68% ευαισθησία και 83% ειδικότητα, επομένως μπορεί να υποδηλώνει καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ μια φυσιολογική ακτινογραφία δεν μπορεί να αποκλείσει τη διάγνωση. Στην εικόνα 4 φαίνεται μια ακτινογραφία θώρακος ασθενούς με καρδιομεγαλία.



*Εικόνα 4: Ακτινογραφία ενός άνδρα 20 ετών με σοβαρή καρδιομεγαλία αριστερής κοιλίας λόγω μη ισχαιμικής καρδιομυοπάθειας [8].*

### **2.5.3 Ηχοκαρδιογραφία:**

Το 1953 οι Inge Edler και Hellmuth Hertz περιέγραψαν για πρώτη φορά μια νέα διαγνωστική απεικονιστική εξέταση, την ηχοκαρδιογραφία. Το έργο τους συνεχίστηκε από καρδιολόγους σε ολόκληρο τον κόσμο, ενώ γιατροί διαφόρων ειδικοτήτων βρήκαν εφαρμογή αυτής της νέας τεχνολογίας στον δικό τους κλάδο. Η ηχοκαρδιογραφία είναι αυτή τη στιγμή η πιο γρήγορα αναπτυσσόμενη απεικονιστική εξέταση και πολλοί αναμένουν ότι θα αποδειχθεί πιο σημαντική και από την ακτινογραφία.

#### **Θεμελιώδεις Αρχές της Ηχοκαρδιογραφίας:**

Η ηχοκαρδιογραφία βασίζεται στην εκπομπή υπερήχων, δηλαδή ηχητικών κυμάτων με συχνότητα μεγαλύτερη των 20.000 Hz, υψηλότερη από αυτήν που μπορεί να ακούσει ο άνθρωπος. Τα υπερηχητικά κύματα δημιουργούνται εφαρμόζοντας τάση σε ένα πιεζοηλεκτρικό δισκίο και καθώς διέρχονται μέσα

από το ανθρώπινο σώμα ανακλώνται στις διεπαφές μεταξύ ιστών διαφορετικής πυκνότητας. Το ίδιο ή άλλο πιεζοηλεκτρικό δισκίο ανιχνεύει τις ανακλάσεις και τις μετατρέπει πάλι σε ηλεκτρική τάση. Τα μηχανήματα υπερήχων μετράνε το χρόνο που μεσολαβεί από την εκπομπή του κύματος υπερήχων μέχρι την ανίχνευση της ανάκλασής του, υπολογίζοντας έτσι το βάθος της επιφάνειας που προκάλεσε την ανάκλαση, και με τα δεδομένα αυτά δημιουργούν την απεικόνιση του εσωτερικού του ανθρώπινου οργανισμού. Για την ηχοκαρδιογραφία ενηλίκων, χρησιμοποιούνται υπερηχητικά κύματα με συχνότητες 4-7 MHz. Αξίζει να σημειωθεί ότι η τεχνολογία αυτή απαιτεί έναν συμβιβασμό ανάμεσα στην ευκρίνεια της απεικόνισης και στο βάθος της διείσδυσης των υπερηχητικών κυμάτων: υπέρηχοι υψηλότερων συχνοτήτων δημιουργούν ευκρινέστερες εικόνες αλλά σε μικρότερο βάθος διείσδυσης [8, 28].

#### **Κλινική Αξία της Ηχοκαρδιογραφίας για την Κ.Α.:**

Η ηχοκαρδιογραφία κατέχει σημαντικό ρόλο τόσο στη διάγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας, όσο και στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας, αφού παρέχει σε πραγματικό χρόνο πλείστες χρήσιμες πληροφορίες αναίμακτα, ανώδυνα και με σχετικά χαμηλό κόστος. Η ηχοκαρδιογραφία, ή ο διαθωρακικός υπέρηχος καρδιάς, παρέχει πληροφορίες για το μέγεθος, το σχήμα και τον όγκο των θαλάμων της καρδιάς, τη συστολική και τη διαστολική λειτουργία των κοιλιών, το πάχος του τοιχώματος της καρδιάς καθώς και για τη λειτουργία των βαλβίδων. Επιπρόσθετα, με την ηχοκαρδιογραφία μπορεί να μετρηθεί η ταχύτητα της ροής του αίματος και να ποσοτικοποιηθεί η κινητικότητα του μυοκαρδίου. Όσον αφορά την οξεία καρδιακή ανεπάρκεια, η ηχοκαρδιογραφία αποτελεί την πιο χρήσιμη εξέταση για την εύρεση της αιτιολογίας της [3,8]



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Βιοδείκτες

### 3.1 Γενικές πληροφορίες:

#### 3.1.1 Ορισμός:

Βιοδείκτης ορίζεται ως «ένα χαρακτηριστικό που μπορεί να μετρηθεί αντικειμενικά και να αξιολογηθεί ως δείκτης φυσιολογικών βιολογικών διεργασιών, παθογόνων διεργασιών ή φαρμακολογικών αποκρίσεων σε θεραπευτική παρέμβαση», και ορίστηκε πρώτη φορά το 2001 από National Institutes of Health [29].

#### 3.1.2 Ιστορία των βιοδεικτών:

Παρόλο που μέχρι το 2001 δεν υπήρχε επίσημος ορισμός του όρου «βιοδείκτης», υπάρχουν αναφορές του ήδη από το 1957 [30]. Η γλυκόζη του αίματος και η χοληστερόλη αποτελούν μερικούς από τους πρώτους βιοδείκτες για τη διάγνωση και διαχείριση του σακχαρώδους διαβήτη και τον υπολογισμό του καρδιαγγειακού κινδύνου αντίστοιχα [29]. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση τόσο στη χρήση των βιοδεικτών όσο και στον αριθμό των ανακαλύψεων νέων. Η πρόοδος αυτή έχει πυροδοτηθεί από τη διαθεσιμότητα νέων γενετικών πληροφοριών και γονιδιωματικών τεχνολογιών καθώς και από την αυξανόμενη ζήτηση νέων θεραπειών, όπως η αναγεννητική ιατρική [29].

### 3.2 Ταξινόμηση των βιοδεικτών

#### 3.2.1 Τύποι βιοδεικτών:

Οι βιοδείκτες μπορεί να είναι κυτταρικοί, γενετικοί, ορμονολογικοί, μοριακοί, ιστολογικοί, ακτινογραφικοί και φυσιολογικοί. Με άλλα λόγια, οποιοδήποτε αντικειμενικά μετρήσιμο μέγεθος δύναται να αποτελέσει βιοδείκτη, ακόμα και σύνθετες λειτουργίες των οργάνων. Παραδείγματος χάρη, η γλυκόζη του αίματος αποτελεί μοριακό βιοδείκτη, η αρτηριακή πίεση φυσιολογικό ενώ η οστική πυκνότητα ακτινογραφικό.

### **3.2.2 Κατηγορίες Βιοδεικτών:**

#### **3.2.2.1 Προγνωστικοί (Prognostic):**

Οι προγνωστικοί βιοδείκτες χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της πιθανότητας ενός κλινικού γεγονότος [29,31]. Στα κλινικά γεγονότα συμπεριλαμβάνονται ο θάνατος, η υποτροπή μιας νόσου ή η εξέλιξή της, καθώς και η ανάπτυξη νέας πάθησης. Για τους ασθενείς με προηγούμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου, η αυξημένη αρτηριακή πίεση, η αυξημένη χοληστερόλη LDL και η μειωμένη χοληστερόλη HDL αποτελούν προγνωστικούς βιοδείκτες για επόμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου [31]. Η παρουσία ή μη ενός προγνωστικού βιοδείκτη ενδέχεται να συμβάλει στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας αλλά δεν προβλέπει την απόκριση σε αυτήν. Συχνά, οι βιοδείκτες αυτοί χρησιμοποιούνται για την επιλογή των ασθενών που θα συμμετάσχουν σε κλινικές δοκιμές [31].

#### **3.2.2.2 Προβλεπτικοί (Predictive):**

Για τον προσδιορισμό των ασθενών με αυξημένη πιθανότητα απόκρισης σε συγκεκριμένο ιατρικό προϊόν ή περιβαλλοντικό παράγοντα χρησιμοποιούνται οι προβλεπτικοί βιοδείκτες. Η απόκριση μπορεί να είναι κάποιο συμπτωματικό όφελος, βελτιωμένη επιβίωση ή κάποιο ανεπιθύμητο αποτέλεσμα και εξαρτάται από τα βιολογικά χαρακτηριστικά του ασθενούς, όπως το DNA, καθώς και από τα χαρακτηριστικά της διεργασίας της νόσου ή κάποιας άλλης πάθησης [31]. Οι προβλεπτικοί βιοδείκτες συμβάλλουν στην επιλογή της κατάλληλης θεραπείας για τον ασθενή. Για τους ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια, τέτοιο βιοδείκτη αποτελεί το κλάσμα εξώθησης, αφού διαφορετικές θεραπείες έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές ανάλογα με το αν το κλάσμα εξώθησης είναι μειωμένο ή διατηρημένο [31].

#### **3.2.2.3 Διαγνωστικοί (Diagnostic):**

Οι βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση ή την επιβεβαίωση της παρουσίας μιας πάθησης ή για την ταυτοποίηση των ασθενών με υπότυπο μιας νόσου ονομάζονται διαγνωστικοί βιοδείκτες [31]. Παραδείγματος χάριν, οι επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της αρτηριακής πίεσης εκτός κλινικού περιβάλλοντος σε ενήλικες άνω των 18 ετών μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως διαγνωστικός βιοδείκτης της πρωτοπαθούς υπέρτασης.

#### **3.2.2.4 Παρακολούθησης (Monitoring):**

Για την αξιολόγηση της πορείας μιας ασθένειας ή για την απόδειξη έκθεσης σε ιατρικό προϊόν ή περιβαλλοντικό παράγοντα απαιτούνται επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ενός βιοδείκτη

παρακολούθησης. Από έναν βιοδείκτη παρακολούθησης λαμβάνονται πληροφορίες για την εξέλιξη της νόσου, συμπεριλαμβανομένης της εμφάνισης νέων επιπτώσεων, για την επιδείνωση προϋπάρχουσων ανωμαλιών καθώς και για την απόκριση της νόσου μετά από συγκεκριμένη θεραπεία. Εκτός από την απόλυτη τιμή του βιοδείκτη κατά τη μέτρηση, χρήσιμες πληροφορίες λαμβάνονται και από τον ρυθμό μεταβολής του βιοδείκτη καθώς και το μέγεθος της μεταβολής μεταξύ των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων [31]. Παραδείγματα βιοδεικτών παρακολούθησης αποτελούν η αρτηριακή πίεση και η LDL χοληστερόλη [32].

#### **3.2.2.5 Απόκρισης (Response):**

Τα επίπεδα ενός βιοδείκτη απόκρισης μεταβάλλονται με την έκθεση σε ιατρικό προϊόν ή σε περιβαλλοντικό παράγοντα. Οι βιοδείκτες αυτοί ενδέχεται να μετριοούνται ανά τακτά χρονικά διαστήματα, γι' αυτό και συχνά συμπεριλαμβάνονται στους βιοδείκτες παρακολούθησης. Χρησιμοποιούνται ευρέως στις πρώιμες δοκιμές ανάπτυξης φαρμάκων για την μέτρηση της απόκρισης στην ιατρική παρέμβαση καθώς και για τον προσδιορισμό της δόσης. Όσον αφορά την κλινική ιατρική, οι βιοδείκτες απόκρισης καθοδηγούν τις αποφάσεις που αφορούν τη συνεχιζόμενη χρήση ενός φαρμάκου, την ακριβή εύρεση της δόσης που θα χορηγηθεί καθώς και τη δοκιμή νέας θεραπείας [31].

#### **3.2.2.6 Ασφάλειας (Safety):**

Βιοδείκτες ασφάλειας ονομάζονται εκείνοι που έχουν την ικανότητα ανίχνευσης ή πρόβλεψης των ανεπιθύμητων επιδράσεων ενός φαρμάκου ή έκθεσης σε κάποιο περιβαλλοντικό παράγοντα. Η τοξικότητα της ιατρικής παρέμβασης ανιχνεύεται είτε με την παρουσία του βιοδείκτη, είτε με τη μεταβολή του. Με τη μέτρηση των βιοδεικτών ασφάλειας μπορεί να γίνει τροποποίηση της φαρμακευτικής δόσης ή να τερματιστεί η θεραπεία πριν η τοξικότητα προκαλέσει σοβαρά προβλήματα στον ασθενή [31].

#### **3.2.2.7 Επιρρέπειας (Susceptibility/Risk) :**

Οι βιοδείκτες επιρρέπειας σχετίζονται με την πιθανότητα ανάπτυξης μιας πάθησης σε έναν υγιή άνθρωπο. Συχνά συγχέονται με τους προγνωστικούς βιοδείκτες, όμως οι τελευταίοι αφορούν άτομα στα οποία έχει επιβεβαιωθεί ότι νοσούν. Οι βιοδείκτες επιρρέπειας ενδέχεται να ανιχνεύονται ακόμα και δεκαετίες πριν την ανάπτυξη της νόσου και την εμφάνιση των συμπτωμάτων και των κλινικών ενδείξεων. Παράδειγμα βιοδείκτη επιρρέπειας αποτελεί η αυξημένη LDL χοληστερόλη, η οποία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου [31].

### **3.3 Σημασία των βιοδεικτών:**

Η διάγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας δεν αποτελεί μια εύκολη διαδικασία. Τα αρχικά συμπτώματα έχουν μικρή ευαισθησία ή/και ειδικότητα, ενώ πολύ συχνά απαντώνται σε πολλές διαφορετικές ασθένειες. Η ακτινογραφία θώρακος προσφέρει σημαντικές πληροφορίες για το σχήμα και το μέγεθος της καρδιάς, όμως δεν αρκεί ούτε για τη διάγνωση αλλά ούτε και για τον αποκλεισμό της νόσου από τις πιθανές αιτίες. Επιπρόσθετα, λόγω της ακτινοβολίας στην οποία υπόκειται ο ασθενής κατά τη διεξαγωγή μια ακτινογραφίας, αυτή δε θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τον τακτικό έλεγχο του ασθενούς. Επιπλέον, ενώ από ένα ΗΚΓ εξάγονται κρίσιμες πληροφορίες, το ΗΚΓ εξαρτάται άμεσα από την σωστή διεξαγωγή και ερμηνεία του. Τα τεχνικά λάθη κατά τη διεξαγωγή του ΗΚΓ, όπως η κινητικότητα του ασθενούς, η εσφαλμένη τοποθέτηση των ηλεκτροδίων, κάποια διαρροή ρεύματος ή η αστοχία της γείωσης, οι εξωτερικές παρεμβολές από κοντινές ηλεκτρικές πηγές, καθώς και η μη ακριβής επανατοποθέτηση των ηλεκτροδίων ανάμεσα στις καταγραφές μπορεί να οδηγήσουν σε σοβαρά διαγνωστικά σφάλματα. Η ηχοκαρδιογραφία αποτελεί το πιο χρήσιμο εργαλείο για τη διάγνωση της καρδιακής ανεπάρκειας, όμως η πρόσβαση σε αυτήν δεν είναι πάντα δυνατή, ειδικά στα οξέα περιστατικά. Επιπλέον, το ηχοκαρδιογράφημα ενδέχεται να είναι φυσιολογικό στους ασθενείς με HFpEF [33]. Ταυτόχρονα, όλες οι παραπάνω διαγνωστικές μέθοδοι, που αναλύονται στο Κεφάλαιο 2, απαιτούν ειδικό εργαστηριακό εξοπλισμό και εξειδικευμένο προσωπικό για να τις εκτελέσει. Επομένως, ανάγκη για μια μέθοδο διάγνωσης και κυρίως παρακολούθησης των ασθενών καρδιακής ανεπάρκειας μέσω κάποιου αντικειμενικά μετρήσιμου μεγέθους που εξαρτάται και συνδέεται άμεσα με τη νόσο, χωρίς να επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από τεχνικά ή ερμηνευτικά λάθη και χωρίς να θέτει σε κίνδυνο την υγεία του ασθενούς είναι μείζονος σημασίας.

### **3.4 Νατριουρητικά πεπτίδια:**

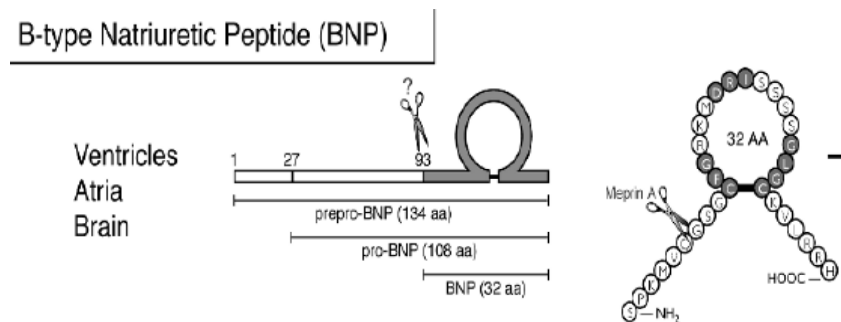
Τα Νατριουρητικά Πεπτίδια αποτελούν τους πιο εκτενώς μελετημένους και χρησιμοποιούμενους βιοδείκτες στην καρδιακή ανεπάρκεια [33]. Υπάρχουν τρία κύρια είδη νατριουρητικών πεπτιδίων: το κολπικό ή A, το εγκεφαλικό ή B και το νατριουρητικό πεπτίδιο C. Τα ANP και BNP παράγονται από τους κόλπους και τις κοιλίες του μυοκαρδίου [34,35], ενώ το CNP προέρχεται κυρίως από τα ενδοθηλιακά κύτταρα [36]. Η αύξηση των νατριουρητικών πεπτιδίων στο αίμα παρατηρείται σε καταστάσεις διάτασης των κολπικών και κοιλιακών τοιχωμάτων [35,37], καρδιακής ανεπάρκειας, ισχαιμικής βλάβης ή αρρυθμίας [35] και κατέχουν θεμελιώδη ρόλο στην καρδιαγγειακή αναδιαμόρφωση, στην απόκριση στον τραυματισμό του μυοκαρδίου [37] και γενικότερα στην προστασία του καρδιαγγειακού συστήματος [36].



Τα ANP και BNP συμβάλλουν στην προαγωγή της διούρησης, της νατριούρησης και της αγγειοδιαστολής [35,36] με σκοπό τη μείωση της αρτηριακής πίεσης και της καρδιακής ίνωσης αντίστοιχα [34]. Το CNP προστατεύει κυρίως από τις επιπτώσεις της καρδιαγγειακής αναδιαμόρφωσης μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου. [36]

### 3.4.1 Εγκεφαλικό Νατριουρητικό Πεπτίδιο:

Το BNP απομονώθηκε πρώτη φορά από εγκεφαλικό ιστό χοίρων, γι' αυτό και ονομάστηκε Εγκεφαλικό Νατριουρητικό Πεπτίδιο (Brain Natriuretic Peptide), ενώ ακολούθως βρέθηκε σε πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση στους καρδιακούς ιστούς [34]. Η διάταση των καρδιακών τοιχωμάτων δίνει το έναυσμα για την σύνθεση του πεπτιδίου pre-proBNP στις κοιλίες του μυοκαρδίου [36]. Ακολούθως, το pre-proBNP, το οποίο αποτελείται από 134 αμινοξέα, διασπάται σε δύο αλληλουχίες των 26 και 108 αμινοξέων αντίστοιχα, με τη δεύτερη να αποτελεί το πεπτίδιο proBNP. Τέλος, το proBNP διασπάται στο βιολογικά ενεργό BNP που αποτελείται από 32 αμινοξέα και στο ανενεργό NT-proBNP που αποτελείται από τα υπόλοιπα 76 [36]. Η διαδικασία αυτή φαίνεται στην εικόνα 5. Σε αντίθεση με το ANP, το BNP βρίσκεται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στις καρδιακές κοιλίες, όπου συντίθεται ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες, και όχι αποθηκευμένο στα κολπικά κοκκία. Στον ανθρώπινο οργανισμό, ο χρόνος ημιζωής του BNP είναι περίπου 20 λεπτά [36].



Εικόνα 5: Τα σημεία διάσπασης των pre-proBNP και proBNP (αριστερά), καθώς και η δομή του BNP (δεξιά). [34]

### **3.4.2 Εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο και καρδιακή ανεπάρκεια.**

#### **3.4.2.1 Διάγνωση:**

Το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο κατέχει πλέον σημαντικό ρόλο στη διάγνωση των ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια. Δεδομένου ότι 50% των ασθενών με δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας δεν εμφανίζουν συμπτώματα [37], αλλά και λόγω της χαμηλής ευαισθησίας των συμπτωμάτων της καρδιακής ανεπάρκειας η μέτρηση των επιπέδων BNP στο πλάσμα αποτελεί ένα εξαιρετικά χρήσιμο τεστ. Για τη διάγνωση των ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια που παρουσιάζονται με δύσπνοια στα επείγοντα περιστατικά, το όριο των 100pg/mL BNP στο πλάσμα παρουσιάζει ευαισθησία 90% και ειδικότητα 76%. Επιπλέον, η ακρίβεια του φτάνει το 83%, υψηλότερη από τα καθιερωμένα κριτήρια της Εθνικής Εξετασης Υγείας και Διατροφής (67% ακρίβεια) και της Έρευνας Framingham (73% ακρίβεια). [38,39] Οι ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια είναι πιο πιθανό να έχουν συγκέντρωση BNP στο πλάσμα μεγαλύτερη από 400pg/mL [38,39], ενώ συγκέντρωση μικρότερη των 100pg/mL σχεδόν αποκλείει την καρδιακή ανεπάρκεια ως αιτία στους ασθενείς που εμφανίζονται με οξεία δύσπνοια. Για τους ασθενείς με ενδιάμεσες τιμές από 100 έως 400 pg/mL απαιτούνται περαιτέρω εξετάσεις [39]. Η μέτρηση του BNP δεν είναι χρήσιμη μόνο για τα οξεία σύνδρομα, αλλά βρίσκει εφαρμογές και στην πρωτοβάθμια φροντίδα, αφού αυξημένες συγκεντρώσεις BNP παρατηρούνται και στους ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Παρ' όλα αυτά, φαίνεται να υπάρχει σημαντική επικάλυψη μεταξύ των τιμών BNP στους υγιείς και στους ασθενείς, γι' αυτό και η συμβολή του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου στην περίπτωση αυτή αφορά κυρίως στον αποκλεισμό της καρδιακής ανεπάρκειας ως αιτία των συμπτωμάτων που ταλαιπωρούν τον ασθενή [38]. Η Ευρωπαϊκή Εταιρεία Καρδιολογίας προτείνει ως άνω όριο συγκέντρωσης BNP τα 35pg/mL για τον αποκλεισμό της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας, τιμή με αρνητική προγνωστική αξία 0,94 [39].

#### **3.4.2.2 Πρόγνωση:**

Το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο αποδεικνύεται εξίσου χρήσιμο ως προγνωστικός βιοδείκτης, τόσο στην οξεία όσο και στην χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια ή ακόμα και σε ασυμπτωματικούς ασθενείς με δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας, αφού όσο υψηλότερη είναι η συγκέντρωσή του στο αίμα, τόσο δυσμενέστερη είναι η πρόγνωση [36,38]. Κάθε 100pg/mL αύξηση του επιπέδου BNP στο αίμα σχετίζεται με 35% αύξηση του κινδύνου θανάτου τόσο στην οξεία όσο και στη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια [36]. Όσον αφορά τη νόσο των στεφανιαίων αρτηριών, το BNP έχει την υψηλότερη προγνωστική ακρίβεια και παρέχει συμπληρωματική πληροφορία προς την αγγειογραφικά καθορισμένη έκταση της στεφανιαίας

νόσου [36]. Επιπλέον, το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο σχετίζεται με την πιθανότητα επανανοσηλείας, ενώ για τους ασθενείς με σταθερά υψηλά επίπεδα BNP που δεν ανταποκρίνονται σε θεραπεία η πρόγνωση είναι ακόμη πιο δυσμενής [39]. Η συγκέντρωση BNP στο αίμα του ασθενούς στο τέλος της νοσηλείας του αποτελεί προγνωστικό βιοδείκτη ανεξάρτητα από το αποτέλεσμα της αρχικής ηχοκαρδιογραφίας. Οι ασθενείς με συγκέντρωση μεγαλύτερη των 700pg/mL την ημέρα του εξιτηρίου είχαν πάνω από 15 φορές πιθανότητα θανάτου ή επανανοσηλείας σε σχέση με τους ασθενείς με συγκέντρωση BNP μικρότερη των 350pg/mL [36]. Τέλος, το BNP φαίνεται να σχετίζεται με τον αιφνίδιο καρδιακό θάνατο όταν και το κλάσμα εξώθησης είναι μικρότερο του 35% ή/και μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου [39].

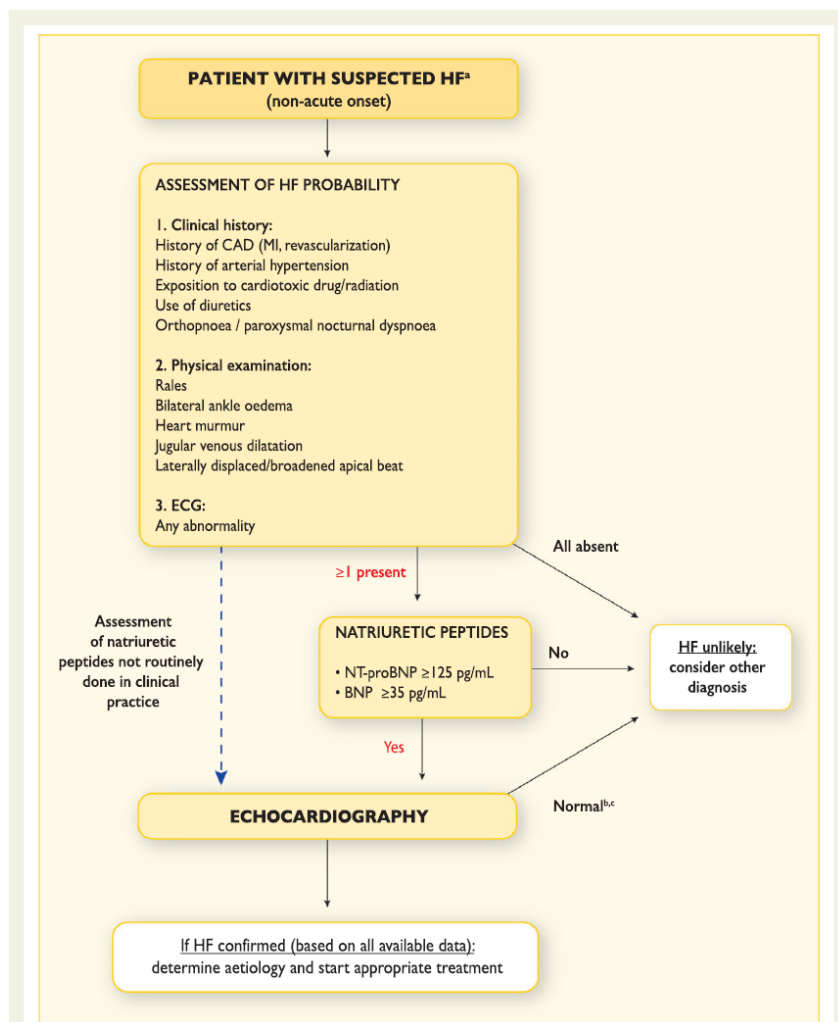
#### **3.4.2.3 Παρακολούθηση:**

Η χρήση του BNP ως βιοδείκτη παρακολούθησης για τους ασθενείς που έχουν εξέλθει από το νοσοκομείο ενδέχεται να επιφέρει θετικά αποτελέσματα. Στους ασθενείς με σταθεροποιημένη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, αύξουσα τάση της συγκέντρωσης BNP στο αίμα φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα επανανοσηλείας λόγω οξείας καρδιακής ανεπάρκειας, ενώ φθίνουσα τάση σχετίζεται με μείωση της πιθανότητας αυτής [37]. Επιπλέον, η γνώση της συγκέντρωσης BNP του ασθενούς σε «σταθερή» κατάσταση ενδέχεται να συμβάλλει στην καλύτερη διαχείρισή του σε σχέση με τα τυποποιημένα όρια των συγκεντρώσεων, αφού προσθέτει ένα εξατομικευμένο μέτρο σύγκρισης με το οποίο μπορούν να αναγνωριστούν οι μεγάλες διακυμάνσεις στα επίπεδα BNP [36].

#### **3.4.2.4 Θεραπεία:**

Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα της θεραπείας που βασίζεται στη συγκέντρωση BNP στο πλάσμα του ασθενούς, απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για την εδραίωση της χρήσης της. Παρ' όλα αυτά, η BNP καθοδηγούμενη θεραπεία φαίνεται να βελτιώνει τη θνησιμότητα από κάθε αιτία, ειδικά στους ασθενείς που είναι κάτω των 75 ετών [39,40]

Στην εικόνα 6 φαίνεται ο αλγόριθμος ο οποίος προτείνεται από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Καρδιολογίας για τη διάγνωση των ασθενών με πιθανή καρδιακή ανεπάρκεια.



Εικόνα 6: Αλγόριθμος για τη διάγνωση πιθανής χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας από την Ευρωπαϊκή Εταιρεία Καρδιολογίας. Αν έστω και ένα από το ιστορικό του ασθενούς, τη φυσική εξέταση και το ηλεκτροκαρδιογράφημα παρουσιάζουν ανησυχία, προτείνεται η μέτρηση των BNP και NT-proBNP. Αν η συγκέντρωσή τους βρεθεί κάτω από 35 και 125pg/mL αντίστοιχα, τότε η καρδιακή ανεπάρκεια καθίσταται απίθανη [3].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: Βιοαισθητήρες και τεχνικές μέτρησης

### 4.1 Αισθητήρες

#### 4.1.1 Ορισμός

Σύμφωνα με τον πιο γενικό ορισμό, αισθητήρας ονομάζεται εκείνη η διάταξη η οποία λαμβάνει και απαντά σε ένα σήμα ή μια διέγερση. Λόγω της ευρείας χρήσης των αισθητήρων σε ηλεκτρικά συστήματα η ονομασία «αισθητήρας» συχνά αναφέρεται σε εκείνες τις συσκευές που μετατρέπουν το διεγείρον σήμα σε κάποιο ηλεκτρικό μέγεθος. Διεγείρον σήμα μπορεί να αποτελεί κάποια συγκεκριμένη ιδιότητα, ποσότητα ή συνθήκη, η οποία ανιχνεύεται και μετατρέπεται σε ηλεκτρικό σήμα. Παραδείγματα διέγερσης συνιστούν η ένταση του φωτός, το μήκος κύματος, τα ηχητικά κύματα, η πίεση, η επιτάχυνση ή ακόμα και η χημική σύσταση, ενώ το ηλεκτρικό σήμα που λαμβάνεται στην έξοδο μπορεί να είναι ρεύμα, μεταβολή στη χωρητικότητα, ηλεκτρικό φορτίο κ.α. Ουσιαστικά, οι αισθητήρες αποτελούν ένα υποσύνολο των μετατροπέων ενέργειας ή μορφοτροπέων (αγγλ. transducers), αφού μετατρέπουν την ενέργεια του διεγείροντος σήματος σε κάποια άλλη μορφή, συνήθως ηλεκτρική [41].

#### 4.1.2 Ταξινόμηση:

Οι αισθητήρες μπορούν να ταξινομηθούν με πολλά και διαφορετικά κριτήρια, ανάλογα με τον στόχο της ταξινόμησης. Στη συνέχεια αναφέρονται τα κυριότερα από αυτά. [41]

##### 4.1.2.1 Με βάση την ύπαρξη εξωτερικής πηγής:

Οι αισθητήρες διακρίνονται σε ενεργητικούς και παθητικούς. Οι παθητικοί αισθητήρες δεν απαιτούν εξωτερική ενέργεια τροφοδοσίας για να λειτουργήσουν, αλλά αρκεί η ενέργεια του διεγείροντος σήματος για την παραγωγή του ηλεκτρικού σήματος εξόδου. Παραδείγματα παθητικών αισθητήρων αποτελούν το θερμοστοιχείο, οι πιεζοηλεκτρικοί αισθητήρες, η φωτοδίοδος κ.α. [41]

Αντίθετα, οι ενεργητικοί αισθητήρες απαιτούν εξωτερική πηγή ενέργειας για να λειτουργήσουν, η οποία στην αγγλική ορολογία εμφανίζεται ως excitation signal. Για παράδειγμα, για να μετρηθεί η αντίσταση σε έναν αισθητήρα Strain gauge απαιτείται εξωτερική πηγή ηλεκτρικού ρεύματος που να διαρρέει την αντίσταση.

#### **4.1.2.2 Με βάση την κλίμακα μέτρησης:**

Οι αισθητήρες διακρίνονται σε σχετικούς και απόλυτους. Ένα απόλυτος αισθητήρας μετατρέπει το διεγείρον σήμα αναφορικά με μια απόλυτη φυσική κλίμακα, ανεξάρτητη από τις συνθήκες μέτρησης. Το θερμίστορ αποτελεί παράδειγμα απόλυτου αισθητήρα, αφού η ηλεκτρική του αντίσταση εξαρτάται από την απόλυτη θερμοκρασία σε βαθμούς Kelvin.

Αντίθετα, το σήμα εξόδου ενός σχετικού αισθητήρα εξαρτάται από τις συνθήκες μέτρησης. Για παράδειγμα, το θερμοστοιχείο αποτελεί έναν σχετικό αισθητήρα, αφού δεν μετράει απόλυτη θερμοκρασία αλλά διαφορά θερμοκρασίας.

#### **4.1.2.3 Με βάση τη μορφή ενέργειας του διεγείροντος σήματος:**

Ανάλογα με τη μορφή ενέργειας του διεγείροντος σήματος, ένας αισθητήρας μπορεί να είναι, μηχανικός, ηλεκτρικός, θερμικός, ακτινοβολίας, μαγνητικός, χημικός, βιοχημικός κ.α. Ο αισθητήρας ο οποίος θα κατασκευαστεί αποτελεί βιοχημικό αισθητήρα.

### **4.1.3 Βιοχημικοί αισθητήρες:**

#### **4.1.3.1 Ορισμός:**

Οι βιοχημικοί αισθητήρες αποτελούν υποκατηγορία των χημικών αισθητήρων και χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση και μέτρηση βιοχημικών και βιολογικών ενώσεων. Συνήθως αποτελούνται από ένα βιολογικό υπόστρωμα όπου γίνεται η χημική αντίδραση και ένα αισθητήριο στοιχείο. Η βιολογική ένωση - στόχος προς ανίχνευση και μέτρηση συνήθως αναφέρεται στη βιβλιογραφία ως αναλύτης (αγγλ. analyte), ενώ η ένωση με την οποία αλληλεπιδρά ο αναλύτης πάνω στο βιολογικό υπόστρωμα και επιτρέπει την ανίχνευσή του ονομάζεται βιο-υποδοχέας (αγγλ. bio-receptor). Μερικά παραδείγματα αναλυτών αποτελούν πρωτεΐνες, πεπτίδια, ιοί, μικροοργανισμοί κ.α.

Κατά τη λειτουργία ενός βιοχημικού αισθητήρα λαμβάνουν χώρα δύο διεργασίες: η αναγνώριση (αγγλ. recognition) και η μεταγωγή (αγγλ. transduction). Στο στάδιο της αναγνώρισης, ο αναλύτης αλληλεπιδρά εκλεκτικά με τον βιο-υποδοχέα. Λόγω της αλληλεπίδρασης αυτής, φυσικά ή χημικά χαρακτηριστικά του αισθητηρίου στοιχείου μεταβάλλονται συναρτήσει της συγκέντρωσης του αναλύτη. Η μέτρηση της μεταβολής των χαρακτηριστικών αυτών επιτρέπει τον προσδιορισμό του αναλύτη τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται μεταγωγή [42]. Για παράδειγμα, αν ο βιο-υποδοχέας έχει

ακίνητοποιηθεί στο διηλεκτρικό ή στο μέταλλο ενός πυκνωτή, τότε η αλληλεπίδραση μεταξύ του βιο-υποδοχέα και του αναλύτη μεταβάλλει την χωρητικότητα του πυκνωτή. Με τη μέτρηση της μεταβολής της χωρητικότητας προσδιορίζεται συγκέντρωση του αναλύτη.

Οι βιοχημικοί αισθητήρες μπορεί να είναι με επισήμανση ή χωρίς (label-free). Οι βιοαισθητήρες με επισήμανση χρησιμοποιούν βιομόρια ως «ετικέτες» για την ανίχνευση του αναλύτη. «Ετικέτες» μπορούν να αποτελέσουν ένζυμα, ραδιενεργά σωματίδια, φθορίζοντα σωματίδια κ.α.

#### **4.1.3.2 Χαρακτηριστικά:**

Εκτός από τα συνήθη κριτήρια που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση ενός αισθητήρα, όπως σταθερότητα, επαναληψιμότητα, γραμμικότητα, υστέρηση και ταχύτητα απόκρισης, για τους βιολογικούς αισθητήρες δύο ακόμα χαρακτηριστικά είναι απαραίτητα: η εκλεκτικότητα και η ευαισθησία.

#### **Εκλεκτικότητα:**

Ένας βιοαισθητήρας με υψηλή εκλεκτικότητα αποκρίνεται μόνο παρουσία του επιθυμητού αναλύτη και δεν επηρεάζεται από την ύπαρξη άλλων βιολογικών ή/και χημικών ουσιών. Αν η εκλεκτικότητα του αισθητήρα είναι χαμηλή, τότε άλλες ουσίες πέραν του αναλύτη επηρεάζουν τα μετρήσιμα χαρακτηριστικά του, και επομένως δεν είναι δυνατός ο ακριβής προσδιορισμός της συγκέντρωσης του αναλύτη [41].

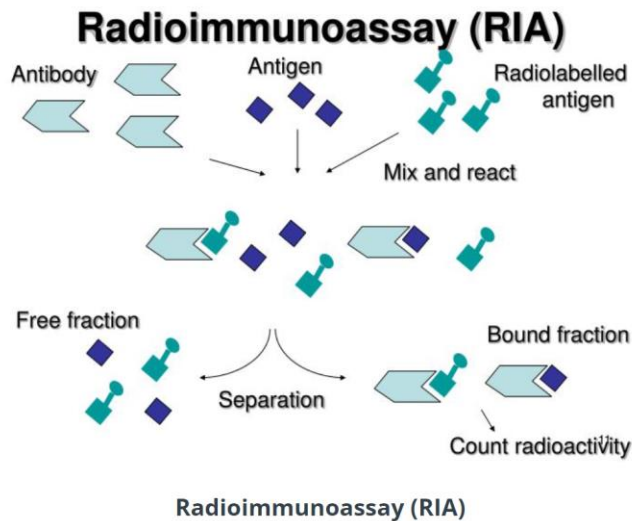
#### **Ευαισθησία:**

Η ευαισθησία ορίζεται ως η ελάχιστη συγκέντρωση ή/και μεταβολή συγκέντρωσης του αναλύτη που μπορεί να ανιχνευθεί και να μετρηθεί επανειλημμένα από τον αισθητήρα [41].

## 4.2 Κλασικές μέθοδοι μέτρησης BNP:

### 4.2.1 Ραδιοανασολογική μέθοδος:

Με αυτή τη μέθοδο κατασκευάστηκαν οι πρώτοι αισθητήρες ανίχνευσης πρωτεϊνών, όπως το BNP. Αρχικά, μια γνωστή ποσότητα αντιγόνων καθίσταται ραδιενεργή, συνήθως με επισήμανση ραδιενεργών ισωτόπων ιωδίου, όπως το  $^{125}\text{I}$ . Στη συνέχεια, το ραδιενεργό αντιγόνο αναμειγνύεται με γνωστή ποσότητα αντισωμάτων του συγκεκριμένου αντιγόνου με αποτέλεσμα την πρόσδεση των ραδιενεργών αντιγόνων πάνω στα αντισώματα. Ακολούθως, προστίθεται στο μείγμα δείγμα ασθενούς με άγνωστη ποσότητα του συγκεκριμένου αντιγόνου. Τα μη επισημασμένα αντιγόνα ανταγωνίζονται τα επισημασμένα για την πρόσδεσή τους πάνω στα αντισώματα. Καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση των μη επισημασμένων αντιγόνων, δηλαδή των αντιγόνων του ασθενούς, περισσότερα ραδιενεργά αντιγόνα «χάνουν» τη θέση τους και αποδεσμεύονται από τα αντισώματα. Τέλος, τα δεσμευμένα αντιγόνα απομακρύνονται και μετριέται η ραδιενέργεια είτε του μείγματος που απέμεινε, είτε των δεσμευμένων αντιγόνων με χρήση ενός μετρητή ραδιενέργειας και επομένως καθίσταται δυνατός ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του αντιγόνου στο πλάσμα του ασθενούς. Η διαδικασία αναπαρίσταται στην εικόνα 7.



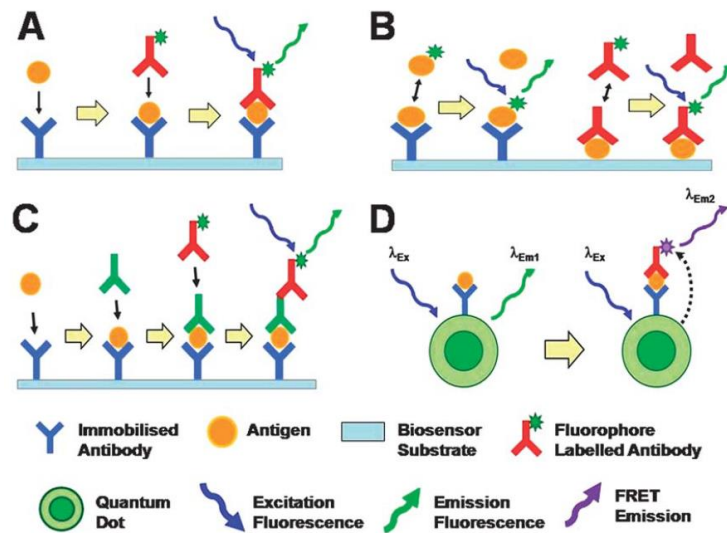
Εικόνα 7: Αναπαράσταση της ραδιοανασολογικής μεθόδου. Αντισώματα αναμειγνύονται με μη επισημασμένα και με ραδιενεργά επισημασμένα αντιγόνα. Τα δύο είδη αντιγόνων ανταγωνίζονται μεταξύ τους για την πρόσδεση στα αντισώματα. Στη συνέχεια διαχωρίζονται τα αδέσμευτα αντιγόνα από τα δεσμευμένα αντισώματα και μετριέται η ραδιενέργεια [43].



Η μέθοδος αυτή προσφέρει υψηλή ευαισθησία και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση συγκεντρώσεων της τάξης των picomolar. Παρ' όλα αυτά, η ραδιοανοσολογική μέθοδος παρουσιάζει χαμηλή ειδικότητα, αδυναμία αυτοματοποίησης καθώς και αυξημένο υγειονομικό κίνδυνο λόγω της ραδιενεργής φύσης τους. Επιπλέον, η διεξαγωγή αυτής της μεθόδου απαιτεί εξειδικευμένο εργαστηριακό εξοπλισμό και επομένως δεν αποτελεί εύκολη διαδικασία για την πρωτοβάθμια φροντίδα [2].

#### **4.2.2 Φθορίζουσα ανοσολογική μέθοδος:**

Η φθορίζουσα ανοσολογική μέθοδος βασίζει την ανίχνευση του αναλύτη στη δημιουργία δομής αντισώματος-αντιγόνου-αντισώματος. Αρχικά, το πρωτεύον αντίσωμα ακινητοποιείται στο υπόστρωμα του αισθητήρα. Στη συνέχεια εναποτίθεται το δείγμα αντιγόνων, τα οποία δεσμεύονται από τα ακινητοποιημένα αντισώματα λόγω βιοχημικής συγγένειας (αγγλ. affinity). Ακολούθως, εναποτίθενται τα δευτερεύοντα αντισώματα, τα οποία προηγουμένως έχουν επισημανθεί με φθορίζουσα ουσία. Τα δευτερεύοντα αντισώματα δημιουργούν δεσμούς με τα ελεύθερα άκρα των αντιγόνων, όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα. Έπειτα, καθαρίζεται η επιφάνεια του αισθητήρα για να απομακρυνθούν αδésμευτα επισημασμένα αντισώματα. Τέλος, η διέγερση της επιφάνειας του αισθητήρα οδηγεί στην εκπομπή φθορισμού. Η ένταση του φθορισμού είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των δεσμευμένων αναλυτών από τα δύο είδη αντισωμάτων και επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης αυτής. Φυσικά, η δομή αντισώματος-αντιγόνου-αντισώματος δεν είναι η μοναδική που χρησιμοποιείται στους αισθητήρες φθορισμού. Στην εικόνα 8, οι περιπτώσεις Β, Γ, και Δ δείχνουν άλλες δημοφιλείς δομές των βιομορίων.



Εικόνα 8: Σχηματικό διάγραμμα τεσσάρων πιθανών δομών βιομορίων των αισθητήρων φθορισμού. A: Η δομή αντισώματος-αντιγόνου-αντισώματος με επισημασμένο δευτερεύον αντίσωμα. B: Επισημασμένα αντιγόνα/αντισώματα ανταγωνίζονται τα αντίστοιχα μη επισημασμένα για τη δέσμευση ενός αντισώματος/αντιγόνου. C: εκτεταμένη δομή με χρήση τρίτου επισημασμένου αντισώματος D: δομή αντισώματος-αντιγόνου-αντισώματος πάνω σε μικροσωματίδιο (quantum dot) με δευτερεύον FRET ζεύγος.[44]

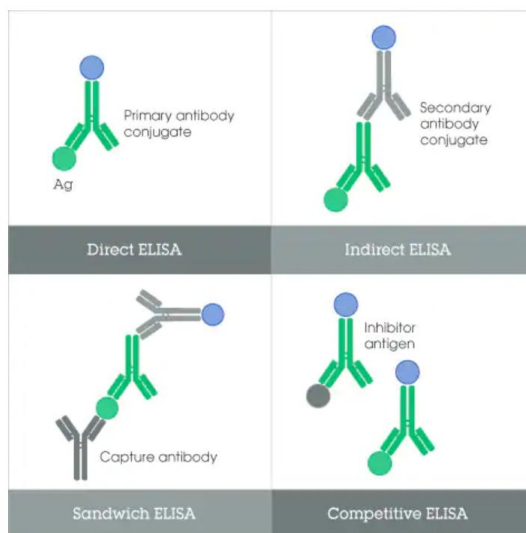
Η φθορίζουσα ανοσολογική μέθοδος, όπως και η ραδιοανοσολογική, απαιτεί ακριβό εργαστηριακό εξοπλισμό και εξειδικευμένο προσωπικό. Επιπλέον, η ενσωμάτωση τέτοιων αισθητήρων σε ολοκληρωμένα κυκλώματα παρουσιάζει πολλές προκλήσεις όσον αφορά την ελαχιστοποίηση του μεγέθους των συσκευών διέγερσης και ανίχνευσης του φθορισμού χωρίς την χειροτέρευση της ευαισθησίας ανίχνευσης. Συχνά, η συσκευή ανίχνευσης του φθορισμού είναι αρκετές τάξεις μεγαλύτερη σε διαστάσεις από το ίδιο το ολοκληρωμένο κύκλωμα. Μέχρι να βρεθεί λύση σε αυτά τα προβλήματα, η χρήση της φθορίζουσας ανοσολογικής μεθόδου σε Point of Care αισθητήρες θα καθυστερήσει. [44]

#### 4.2.3 Ανοσοενζυματική μέθοδος (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay - ELISA):

Η ανοσοενζυματική μέθοδος βασίζεται στη μεταβολή που προκαλεί η αντίδραση ενός ενζύμου με το υπόστρωμα του με σκοπό την ανίχνευση ενός αντιγόνου. Αρχικά, τα αντιγόνα από το δείγμα του ασθενούς ακινητοποιούνται στην επιφάνεια μιας πλάκας, είτε άμεσα, είτε μέσω δημιουργίας δεσμών με αντισώματα που έχουν προηγουμένως ακινητοποιηθεί στην επιφάνεια. Στη συνέχεια, εναποτίθενται στην επιφάνεια αντισώματα συνδεδεμένα με κάποιο ένζυμο, τα οποία με τη σειρά τους δημιουργούν δεσμούς με τα αντιγόνα. Έπειτα, η επιφάνεια καθαρίζεται ώστε να απομακρυνθούν τα αδέσμευτα

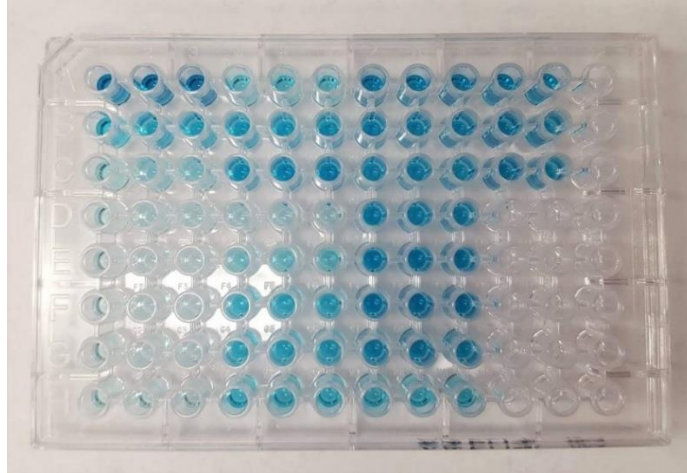
αντισώματα. Τέλος, εναποτίθεται στην επιφάνεια το κατάλληλο υπόστρωμα του ενζύμου, προκειμένου να πυροδοτηθεί η χημική αντίδραση, η οποία προκαλεί κάποια ανιχνεύσιμη μεταβολή, συνήθως χρωματική.

Υπάρχουν διάφοροι τύποι της ανοσοενζυματικής μεθόδου ELISA, ανάλογα με τα βιομόρια που χρησιμοποιούνται και τη δομή που αυτά δημιουργούν. Οι πιο συχνές μορφές της μεθόδου ELISA είναι η άμεση, η έμμεση, η «sandwich» και η ανταγωνιστική, όπως φαίνονται στην εικόνα 9.



Εικόνα 9: Σχηματική αναπαράσταση των διάφορων τύπων της μεθόδου ELISA. Πάνω αριστερά: άμεσος τύπος. Το αντιγόνο του ασθενούς ακινητοποιείται στην επιφάνεια της πλάκας απευθείας, χωρίς την παρεμβολή κάποιας άλλης ουσίας, και ενώνεται απευθείας με το αντίσωμα που κρατάει το ένζυμο. Πάνω δεξιά: έμμεσος τύπος. Το αντιγόνο συνδέεται με αντίσωμα, το οποίο με τη σειρά του δημιουργεί δεσμό με το δευτερεύον αντίσωμα που κρατάει το ένζυμο. Κάτω αριστερά: «sandwich». Το αντιγόνο ακινητοποιείται στην επιφάνεια της πλάκας μέσω αντισώματος. Κάτω δεξιά: ανταγωνιστικός τύπος. Το αντιγόνο του ασθενούς ανταγωνίζεται με ένα αντιγόνο αναφοράς για την δέσμευση των αντισωμάτων [45].

Η ανοσοενζυματική μέθοδος διεξάγεται πάνω σε πολλές μικρές πλάκες, οι οποίες συνήθως είναι ή 96 ή 384, όπως αυτές που φαίνονται στην εικόνα 10. Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου ανήκουν η σχετικά καλή ευαισθησία και ειδικότητα και η ευχρηστία της μεθόδου για το εργαστηριακό προσωπικό. Επιπλέον, δεν είναι απλά μια ποιοτική μέθοδος ανίχνευσης, αλλά και ποσοτική. Παρ' όλα αυτά, η διεξαγωγή της μεθόδου είναι χρονοβόρα και απαιτεί μεγάλο όγκο δείγματος [2].



Εικόνα 10: Φωτογραφία των πλακών (ή πηγαδιών) κατά τη διεξαγωγή της μεθόδου ELISA [46].

### 4.3 Η ανάγκη για καινοτομία:

Αυτή τη στιγμή, τα αποτελέσματα των εξετάσεων που διενεργούνται με τη χρήση των κλασικών μεθόδων μέτρησης καρδιακών βιοδεικτών απαιτούν μερικές ώρες ή/και μέρες για να βγουν. Συνεπώς, το υγειονομικό προσωπικό συχνά αναγκάζεται να προχωρήσει σε αποφάσεις που αφορούν άμεσα την κατάσταση του ασθενούς χωρίς να έχουν στη διάθεσή τους την πλήρη εργαστηριακή εικόνα. Επιπλέον, λόγω της καθυστέρησης έκδοσης των αποτελεσμάτων, καμία από τις παραπάνω μεθόδους δεν επιτρέπει την παρακολούθηση της κατάστασης του ασθενούς σε πραγματικό χρόνο. Σύμφωνα με έρευνες, η καθυστέρηση της διάγνωσης της καρδιακής ανεπάρκειας έχει συνδεθεί με συνταγογράφηση ακατάλληλης θεραπείας, αυξημένο υγειονομικό κόστος, αύξηση του χρονικού διαστήματος νοσηλείας και με συχνότερες επισκέψεις στα επείγοντα περιστατικά [2].

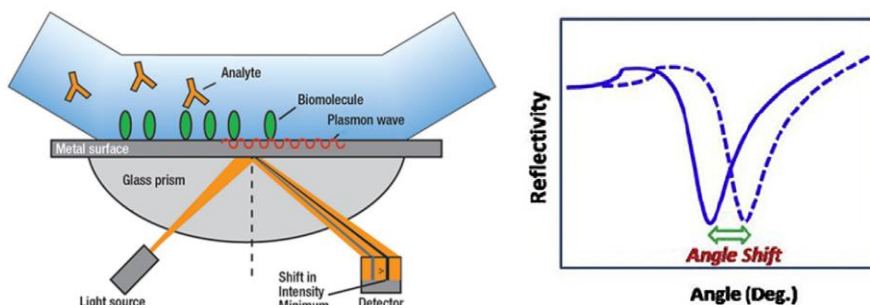
Επιπρόσθετα, όπως προαναφέρθηκε όλες οι παραπάνω εξετάσεις απαιτούν ειδικό εργαστηριακό εξοπλισμό και εξειδικευμένο προσωπικό, επομένως αυξάνουν το υγειονομικό κόστος και συχνά δεν είναι προσβάσιμες στην πρωτοβάθμια φροντίδα.

Δεδομένου ότι ετησίως το 31% των θανάτων παγκοσμίως οφείλεται στις καρδιαγγειακές νόσους, καθώς και το γεγονός ότι από αυτές, η καρδιακή ανεπάρκεια είναι εκείνη που παρουσιάζει τα υψηλότερα νούμερα θνησιμότητας, νοσηρότητας και υγειονομικού κόστους, που εκτιμάται ότι αγγίζει τα 108 δισεκατομμύρια δολάρια ετησίως, η ανάγκη για μια ευαίσθητη, γρήγορη και φθηνή εξέταση που να

επιτρέπει την παρακολούθηση των ασθενών σε πραγματικό χρόνο είναι επιτακτική. Στη συνέχεια θα παρουσιαστούν μερικοί νέοι βιοχημικοί αισθητήρες μέτρησης του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου βασισμένοι σε διάφορες τεχνολογίες, που ενδέχεται να αποτελέσουν το δρόμο για μια πραγματικού χρόνου εξατομικευμένη παρακολούθηση και θεραπεία [2].

#### 4.3.1 SPR αισθητήρας BNP:

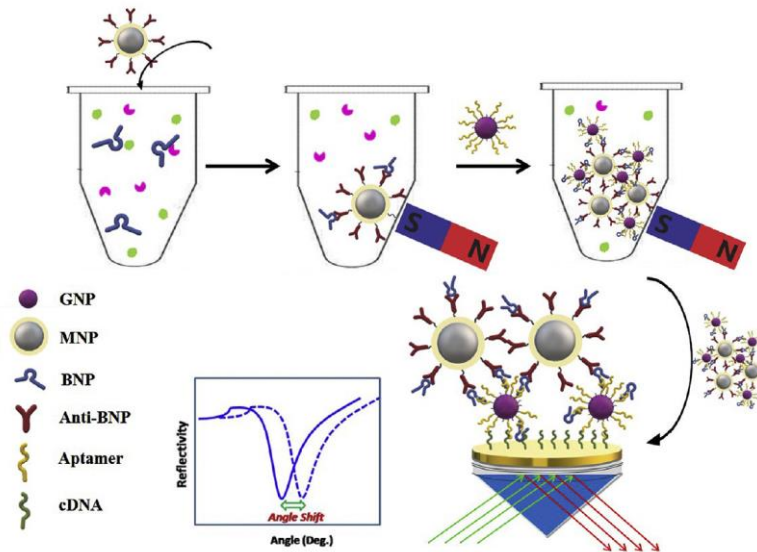
Ο αισθητήρας των Jialin Zhao et al. [47] βασίζει την ανίχνευση του αναλύτη στην τεχνική Συντονισμένων Επιφανειακών Πλασμονίων (Surface Plasmon Resonance ή SPR). Η τεχνική αυτή εκμεταλλεύεται την ευαισθησία των ηλεκτρονίων αγωγιμότητας μερικών υλικών στις επιφανειακές μεταβολές. Η πιο κοινή διάταξη των βιοαισθητήρων που βασίζονται σε αυτή τη μέθοδο, απεικονίζεται στην εικόνα 11 και περιλαμβάνει ένα μεταλλικό υπόστρωμα, συνήθως από χρυσό, στο οποίο είναι ακινητοποιημένος ο βιο-υποδοχέας, μια πηγή φωτός, ένα πρίσμα και έναν ανιχνευτή. Οποιαδήποτε μεταβολή στην μεταλλική επιφάνεια, λόγω της ευαισθησίας των επιφανειακών πλασμονίων, προκαλεί μεταβολή στον τρόπο απορρόφησης του φωτός. Η διαδικασία έχει ως εξής: Αρχικά, δέσμη φωτός οδηγείται μέσω πρίσματος στο κάτω μέρος της μεταλλικής επιφάνειας και αντανακλάται πίσω σε έναν ανιχνευτή. Υπό μια συγκεκριμένη γωνία, η οποία ονομάζεται γωνία συντονισμού, τα ηλεκτρόνια του μετάλλου απορροφούν το φως και δημιουργούν ένα ελάχιστο έντασης στον ανιχνευτή. Επομένως, αν στην επιφάνεια του μετάλλου εναποτεθεί ο αναλύτης, τότε ο δεσμός του με τον ακινητοποιημένο βιο-υποδοχέα θα προκαλέσει μεταβολή στην επιφάνεια του μετάλλου, γεγονός που θα επηρεάσει τη γωνία που παρατηρείται το ελάχιστο της έντασης, όπως φαίνεται στην εικόνα 12.



Εικόνα 11 αριστερά: Κοινή διάταξη αισθητήρων SPR. Εικόνα 12, δεξιά: μετατόπιση του ελαχίστου της έντασης [47].

Η τεχνική αυτή είναι γρήγορη, απλή, χαμηλή σε κατανάλωση ενέργειας, δεν απαιτεί επισήμανση και επιτρέπει την παρακολούθηση σε πραγματικό χρόνο. Το μεγαλύτερο της όμως μειονέκτημα είναι η χαμηλή ευαισθησία της, ειδικά για μικρά βιομόρια όπως το εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτίδιο.

Προκειμένου να βελτιώσουν την ευαισθησία της μεθόδου, οι Jialin Zhao et al. [47] χρησιμοποίησαν νανοσωματίδια χρυσού (GNPs) που έχουν υψηλό ανακλαστικό δείκτη, καθώς και μαγνητοπλάσμονικά σωματίδια. Στα GNPs δεσμεύτηκαν απταμερή (GNPs-Apt), ενώ στα MNPs δεσμεύτηκαν αντισώματα BNP (MNPs-Ab), ώστε να είναι δυνατός ο εντοπισμός των βιομορίων BNP με δύο τρόπους. Με ανάμειξη διαλυμάτων των σωματιδίων αυτών, δημιουργήθηκαν τα συζευγμένα νανοσωματίδια MNPs-Ab/BNP/GNPs-Apt, τα οποία μπορούν να απομακρυνθούν από πολύπλοκα δείγματα μέσω εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, σε περίπτωση που παρατηρηθεί διάλυσή τους, όπως φαίνεται στην εικόνα 13. Το συζυγές DNA (complementary DNA ή cDNA) του απταμερούς που χρησιμοποιήθηκε στα GNPs-Apt ακινητοποιείται στο χρυσό υπόστρωμα ώστε να είναι δυνατή η δέσμευση των νανοσωματιδίων MNPs-Ab/BNP/ GNPs-Apt από το υπόστρωμα. Η δομή αυτή των συζευγμένων νανοσωματιδίων προκαλεί μεταβολή του δείκτη διάθλασης της επιφάνειας και αυξάνει τη μεταβολή της μάζας που με τη σειρά της βελτιώνει το SPR σήμα.



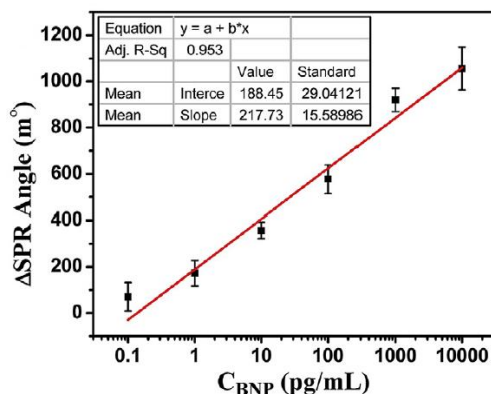
Εικόνα 13: Σχηματική αναπαράσταση της δημιουργίας των συζευγμένων νανοσωματιδίων και της λειτουργίας του αισθητήρα [54].

### Αποτελέσματα:

Οι ερευνητές κατέληξαν ότι η γωνία συντονισμού αυξάνεται αναλογικά με την αύξηση της συγκέντρωσης BNP στο διάλυμα, ενώ παρατηρήθηκε γραμμική σχέση ανάμεσα στην SPR γωνία και στον λογάριθμο της συγκέντρωσης BNP, σύμφωνα με την εξίσωση (2):

$$Y = 217,73 \times \log C + 188,45 \quad (2)$$

Όπου Y η SPR γωνία και C η συγκέντρωση BNP σε pg/mL. Η γραμμική σχέση παρατηρείται για το διάστημα  $10\text{fg/mL} \leq C \leq 10\text{ng/mL}$  και αναπαρίσταται γραφικά στην εικόνα 14. Το κάτω όριο ανίχνευσης του αισθητήρα μετρήθηκε στα 28,2 fg/mL.



Εικόνα 14: Γραφική αναπαράσταση της γραμμικής σχέσης μεταξύ της γωνίας SPR και του λογαρίθμου της χωρητικότητας BNP [47].

Η ερευνητική ομάδα κατέληξε ότι ο συγκεκριμένος αισθητήρας παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα ακόμα και σε ανθρώπινα δείγματα.

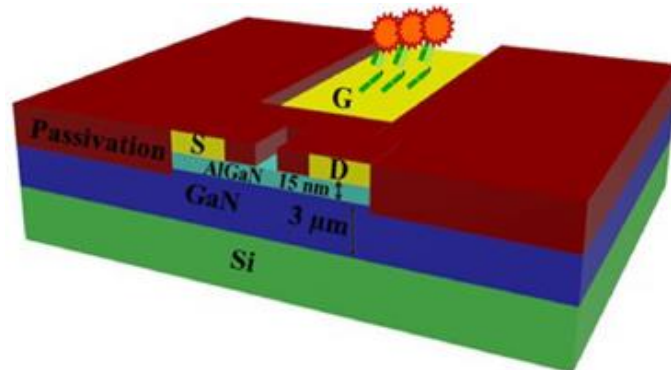
#### 4.3.2 Εκτεταμένος Βιοαισθητήρας FET:

Οι βιοαισθητήρες που βασίζονται σε τρανζίστορ Επίδρασης Πεδίου (Field-Effect Transistor) αποτελούν δημοφιλή επιλογή για την ανίχνευση και τη μέτρηση βιομορίων, λόγω της υψηλής ευαισθησίας τους, του μικρού τους μεγέθους και της label free λειτουργίας τους. Ο εκτεταμένος βιοαισθητήρας FET από τους Chia-Ho Chu et al. [48], προσθέτει στα παραπάνω πλεονεκτήματα και την απευθείας ανίχνευση και

μέτρηση βιομορίων από ανθρώπινο δείγμα, χωρίς την ανάγκη αραίωσης του δείγματος σε διάλυμα με μικρότερη ιοντική ισχύ.

#### Κατασκευή:

Ο αισθητήρας αποτελείται από ένα τρανζίστορ υψηλής κινητικότητας ηλεκτρονίων (Hyper Mobility Electron Transistor, HMET). Το ηλεκτρόδιο της πύλης και το ενεργό κανάλι ανάμεσα στα μέταλλα της πηγής και της υποδοχής βρίσκονται στο ίδιο επίπεδο. Η κατασκευή ξεκινάει με τη χαλκογραφία και ακολουθεί η εναπόθεση των μετάλλων πηγής και υποδοχής, ενώ με θερμική ανέλιξη δημιουργούνται οι ωμικές επαφές. Στη συνέχεια εναποτίθενται τα μεταλλικά ηλεκτρόδια για την πύλη, την πηγή και την υποδοχή. Τέλος, η κατασκευή καλύπτεται με ένα στρώμα παθητικοποίησης, το οποίο αφήνει εκτεθειμένα μόνο το ενεργό κανάλι και το ηλεκτρόδιο της πύλης. Επομένως, μόνο αυτά τα δύο μέρη της κατασκευής θα έρθουν σε επαφή με το ανθρώπινο δείγμα, όταν αυτό εναποτεθεί πάνω στον αισθητήρα. Επιπλέον, στο ενεργό κανάλι ακινητοποιούνται ο απαραίτητος βιο-υποδοχέας για την ανίχνευση του αναλύτη. Η διάταξη που δημιουργείται με τη μέθοδο αυτή φαίνεται στην εικόνα 15.



Εικόνα 15: Σχηματικό μοντέλο λειτουργικού FET βιοαισθητήρα [48].

#### Αρχές Λειτουργίας:

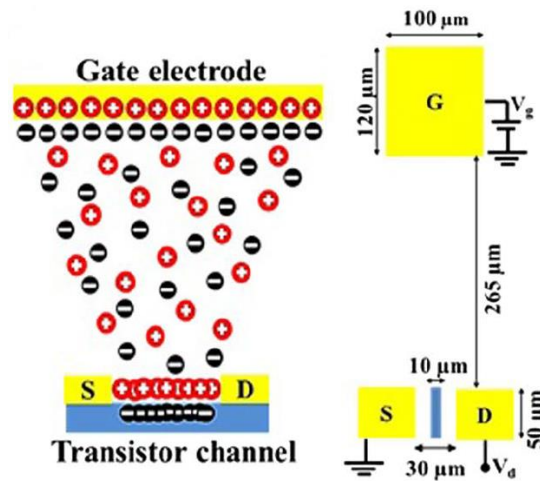
Με την εφαρμογή θετικής τάσης στο ηλεκτρόδιο της πύλης, αρνητικά ιόντα αρχίζουν να συσσωρεύονται στην επιφάνειά του στην ανοιχτή περιοχή. Αντίστοιχα, θετικά ιόντα συσσωρεύονται στην ανοιχτή περιοχή του ενεργού καναλιού, αυξάνοντας έτσι την αγωγιμότητα του HMET. Επιπλέον, ένα ηλεκτρικό διπλό στρώμα δημιουργείται τόσο στο ηλεκτρόδιο της πύλης όσο και στην επιφάνεια του καναλιού, όπως φαίνεται στην εικόνα 16. Επομένως, το διάλυμα που εναποτίθεται πάνω στο FET μπορεί να θεωρηθεί μέρος του διηλεκτρικού της πύλης. Οποιαδήποτε αλλαγή στη χωρητικότητα του διαλύματος θα



επηρεάσει τη μεταβολή της τάσης στο ίδιο το διάλυμα, αλλά και στο στερεό διηλεκτρικό, και άρα θα μεταβάλει το ρεύμα υποδοχής σύμφωνα με την εξίσωση (3).

$$I_d = \frac{W}{L} \mu C_{ox} (V_g - V_t - \frac{1}{2} V_d) V_d \quad (3)$$

όπου,  $I_d$  το ρεύμα υποδοχής σε A,  $W$  και  $L$  το πλάτος και μήκος του καναλιού σε m,  $\mu$  η κινητικότητα των ηλεκτρονίων σε  $m^2/V \cdot s$ ,  $C_{ox}$  η χωρητικότητα του διηλεκτρικού σε F,  $V_g$  η τάση στην πύλη,  $V_t$  η τάση κατωφλίου και  $V_d$  η τάση στην υποδοχή σε Volt.

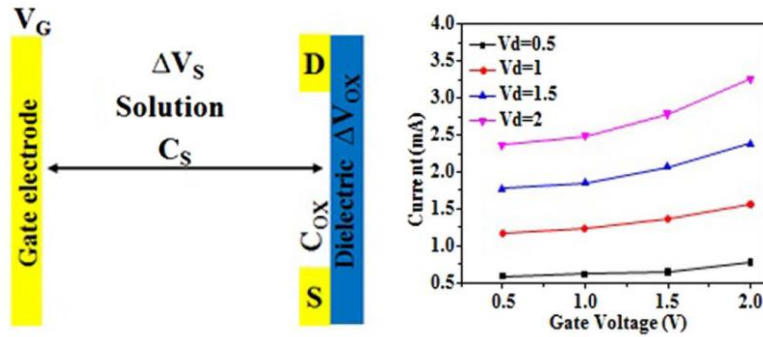


Εικόνα 16: Κατανομή των ιόντων με εφαρμογή θετικής τάσης [48].

Η μεταβολή του ρεύματος υποδοχής μπορεί να εξηγηθεί και με την πτώση τάσης που παρατηρείται κατά μήκος του ΗΜΕΤ. Η πτώση τάσης αναπαρίσταται σχηματικά στην εικόνα 17. Με την εφαρμογή τάσης στην πύλη του τρανζίστορ, παρατηρείται πτώση τάσης στο διάλυμα που έχει εναποτεθεί στον αισθητήρα ίση με  $\Delta V_s$  καθώς και πτώση τάσης κατά μήκος του διηλεκτρικού  $\Delta V_{ox}$ , σύμφωνα με την εξίσωση (4). Η τάση  $V_g$  δημιουργεί το διπλό ηλεκτρικό στρώμα στο εναποτεθέν διάλυμα, δηλαδή χωρητικότητα  $C_s$ . Λόγω της γραμμικής σχέσης που διέπει την εφαρμοζόμενη τάση και τη σύνθετη αντίσταση, η αύξηση της τάσης  $V_g$  θα οδηγήσει σε αυξημένη χωρητικότητα  $C_s$  και άρα αυξημένη εφαρμοζόμενη τάση στο διηλεκτρικό του FET, σύμφωνα με την εξίσωση (5). Αυτό με τη σειρά του συνεπάγεται αύξηση του ρεύματος υποδοχής. Οι τάσεις  $V_g$ ,  $\Delta V_s$  και  $\Delta V_{ox}$  μετρούνται σε V, η γωνιακή συχνότητα  $\omega$  σε rad/s ενώ οι χωρητικότητες  $C_{ox}$  και  $C_s$  σε F.

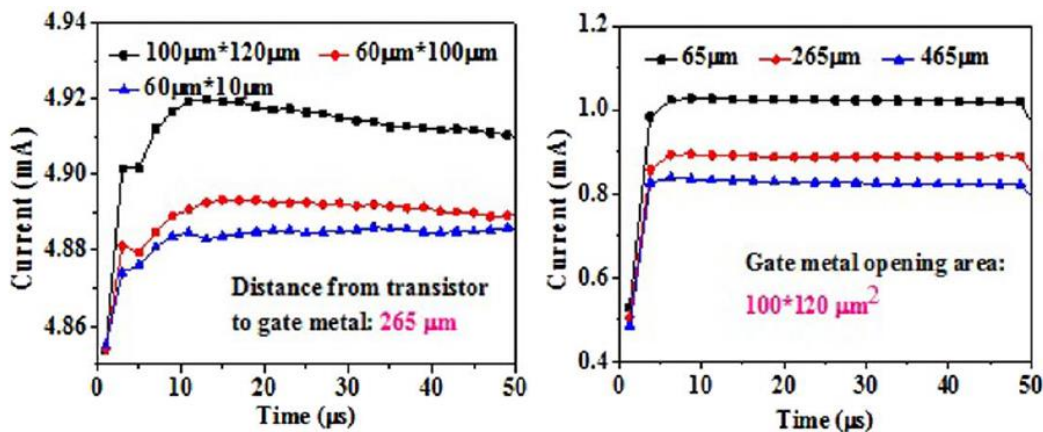
$$V_g = \Delta V_s + \Delta V_{ox} \quad (4)$$

$$\Delta V_{ox} = \frac{\frac{1}{j\omega C_{ox}}}{\frac{1}{j\omega C_{ox}} + \frac{1}{j\omega C_s}} \times V_g = \frac{C_s}{C_{ox} + C_s} \times V_g \quad (5)$$



Εικόνα 17: Αριστερά: Σχηματική αναπαράσταση της πτώσης τάσης κατά μήκος του ΗΜΕΤ. Η εφαρμοζόμενη τάση στην πύλη μειώνεται κατά μήκος του διαλύματος και του διηλεκτρικού, δημιουργώντας μια χωρητικότητα διαλύματος λόγω διπλού ηλεκτρικού στρώματος ιόντων. Μεταβολές στην χωρητικότητα του διαλύματος επηρεάζουν το ρεύμα εξόδου. Δεξιά: η μεταβολή στο ρεύμα υποδοχής με τη μεταβολή της τάσης πύλης [48].

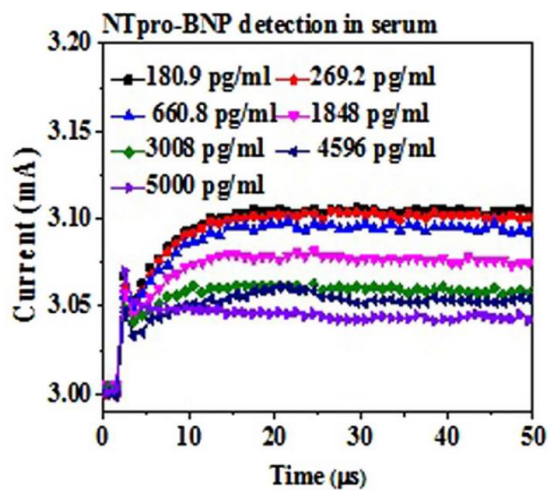
Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι τόσο η απόσταση του ηλεκτροδίου πύλης από το ενεργό κανάλι, όσο και οι διαστάσεις του ανοίγματος του ηλεκτροδίου πύλης επηρεάζουν το ρεύμα υποδοχής. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ της απόστασης του ηλεκτροδίου πύλης από το ενεργό κανάλι και του ρεύματος υποδοχής. Αντίθετα, όσο μεγαλύτερες είναι οι διαστάσεις του ανοίγματος του ηλεκτροδίου της πύλης, τόσο περισσότερα ιόντα έλκονται από αυτό. Κατά συνέπεια, περισσότερα ιόντα συσσωρεύονται στην επιφάνεια του ενεργού καναλιού και επομένως παρατηρείται μεγαλύτερη αύξηση στο ρεύμα υποδοχής. Τα αποτελέσματα φαίνονται γραφικά στην εικόνα 18.



Εικόνα 18: Αριστερά: Η αύξηση των διαστάσεων του ανοίγματος του ηλεκτροδίου πύλης επιφέρει αύξηση στο ρεύμα υποδοχής. Δεξιά: Η αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ της απόστασης του ηλεκτροδίου πύλης από το ενεργό κανάλι και του ρεύματος υποδοχής [48].

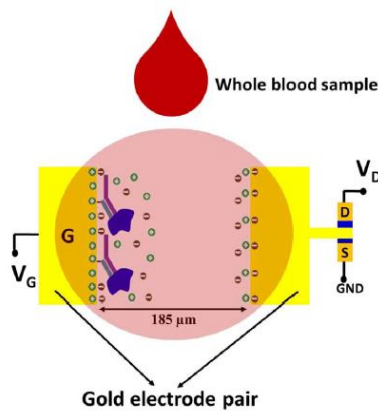
#### Αποτελέσματα:

Στη συγκεκριμένη έρευνα μετρήθηκαν με τον αισθητήρα δείγματα HIV-1 RT, CEA, NT-proBNP και CRP. Στη συνέχεια θα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις NT-proBNP. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε μείωση του ρεύματος υποδοχής με την αύξηση της συγκέντρωσης NT-proBNP, όπως φαίνεται στην εικόνα 19.

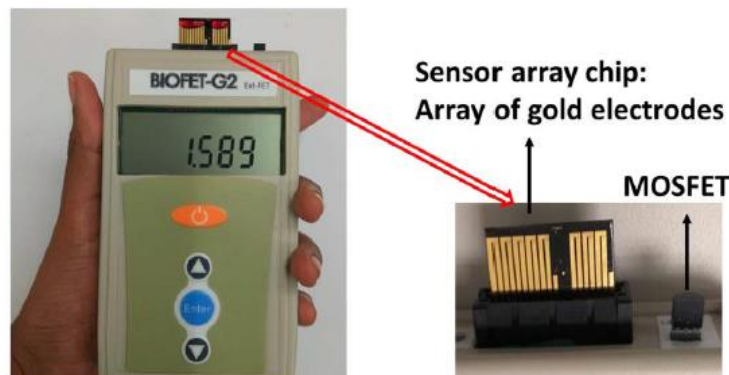


Εικόνα 19: Η μείωση του ρεύματος υποδοχής με την αύξηση της συγκέντρωσης του διαλύματος NT-proBNP [48].

Η παραπάνω έρευνα συνεχίστηκε από την ίδια ομάδα με την κατασκευή ενός πλήρως ολοκληρωμένου αισθητήρα μέτρησης BNP [49]. Εκτός από το τρανζίστορ επίδρασης πεδίου, στο κύκλωμα περιλαμβάνονται μονάδα μικροελεγκτή, οθόνη LCD, καθώς και ένα depletion mode DMOSFET για την διεξαγωγή των ηλεκτρικών μετρήσεων. Η συσκευή χωράει έως οκτώ αισθητήρες πάνω σε ένα ολοκληρωμένο, το οποίο εισάγεται στη θύρα PCI της συσκευής. Επιπλέον, υπάρχει ενσωματωμένη επαναφορτιζόμενη μπαταρία λιθίου για τη λειτουργία της συσκευής, ενώ η συσκευή μπορεί να συνδεθεί με υπολογιστή μέσω Bluetooth ή USB καλωδίου. Στη συνέχεια φαίνονται η σχηματική αναπαράσταση του εσωτερικού κυκλώματος στην εικόνα 20, καθώς και η πραγματική συσκευή στην εικόνα 21.



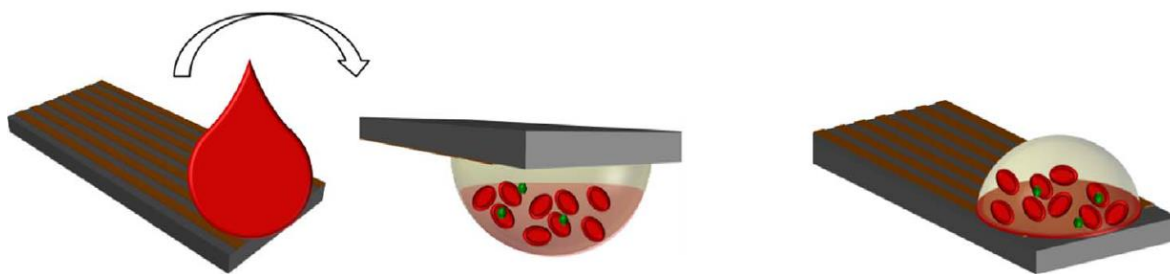
Εικόνα 20: Σχηματική αναπαράσταση του EDL FET. Το μέταλλο της πύλης συνδέεται σε ένα ζευγάρι χρυσών ηλεκτροδίων, τα οποία διαχωρίζονται από ένα μικρό κενό. Τα δύο ηλεκτρόδια προσομοιάζουν έναν πυκνωτή, ενώ το ανθρώπινο δείγμα θα αποτελέσει το διηλεκτρικό. Το EDL FET είναι παθητικοποιημένο και τα μόνα ανοίγματα βρίσκονται στα δύο ηλεκτρόδια. Στο ένα ηλεκτρόδιο έχουν ακινητοποιηθεί οι βιο-υποδοχείς, δηλαδή τα αντισώματα BNP, ενώ το άλλο συνδέεται στην πύλη του FET. Το FET δεν έρχεται καθόλου σε επαφή με το διάλυμα [49].



Εικόνα 21: Φωτογραφία του αισθητήρα χειρός που κατασκευάστηκε [49].

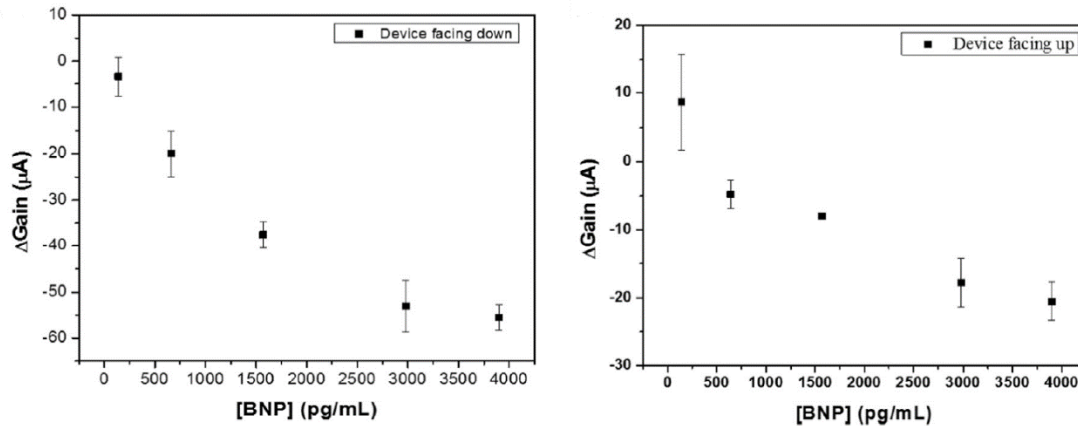
### Αποτελέσματα:

Η ερευνητική ομάδα κατέληξε ότι ο αισθητήρας αυτός είναι ικανός να ανιχνεύει πρωτεϊνικούς βιοδείκτες από μια μόνο σταγόνα αίματος, δηλαδή ποσότητα μικρότερη των 10μL μέσα σε πέντε λεπτά. Επιπλέον, η χρήση του αισθητήρα δεν απαιτεί πολύπλοκα πρωτόκολλα ή αραιώση του δείγματος, όπως είναι απαραίτητο στους συνήθεις FET αισθητήρες, αλλά αρκεί μετά την εναπόθεση του δείγματος, ο αισθητήρας να στραφεί προς τα κάτω, ώστε, λόγω βαρύτητας, τα κύτταρα του αίματος να μην εμποδίσουν την πρόσδεση του BNP στην επιφάνεια του αισθητήρα, όπως φαίνεται στην εικόνα 22.



Εικόνα 22: Σχηματική αναπαράσταση του διαχωρισμού των κυττάρων του αίματος λόγω βαρύτητας [49].

Στην εικόνα 23 φαίνονται τα αποτελέσματα σε μορφή boxplot, για μετρήσεις διαφόρων συγκεντρώσεων με τη συσκευή στραμμένη προς τα κάτω και προς τα πάνω. Και στις δύο περιπτώσεις, παρατηρείται μείωση του κέρδους ρεύματος με την αύξηση της συγκέντρωσης BNP του αίματος. Ο αισθητήρας παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα σε ένα ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων και για τις δύο τοπολογίες. Παρ' όλα αυτά, για τη βελτιστοποίηση της λειτουργίας του αισθητήρα και των αποτελεσμάτων οι ερευνητές προτείνουν την στροφή του αισθητήρα προς τα κάτω για πέντε λεπτά μετά την εναπόθεση του δείγματος.



Εικόνα 23: Μέτρηση BNP σε δείγματα ολικού αίματος με συγκεντρώσεις BNP 0, 140, 644, 1570, 2980, 3900 pg/mL για n=3. Αριστερά: η συσκευή στράφηκε προς τα κάτω για πέντε λεπτά. Δεξιά: η συσκευή παρέμεινε στραμμένη προς τα πάνω [49].

#### 4.3.3 Αισθητήρας πολλαπλών βιοδεικτών ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων:

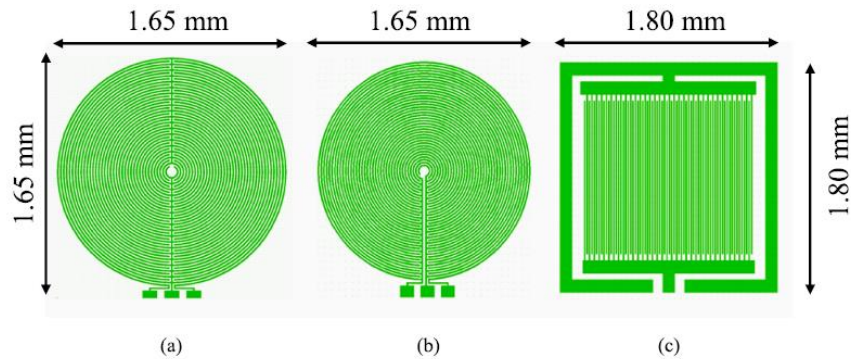
Στη συγκεκριμένη έρευνα κατασκευάστηκε από τους Ceylan O. et al [50] ένας PoC (Point of Care) αισθητήρας χειρός βασισμένος σε κυκλικό πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων. Ο αισθητήρας διαθέτει δώδεκα τέτοιους πυκνωτές, από τους οποίους μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι έντεκα, ώστε ο δωδέκατος να λειτουργεί ως αναφορά. Επομένως, ο αισθητήρας επιτρέπει την ανίχνευση πολλαπλών βιοδεικτών ταυτόχρονα από το ίδιο δείγμα αίματος. Οι αναλύτες που χρησιμοποιήθηκαν είναι BNP, SAA, IL-6, Fibrinogen, Troponin-I και TNF-α.

#### Σχεδίαση και κατασκευή των πυκνωτών:

Για την επιλογή της βέλτιστης γεωμετρίας των πυκνωτών μελετήθηκαν τρεις διαφορετικές διατάξεις, όπως φαίνονται στην εικόνα 24. Το πρώτο κριτήριο αξιολόγησης των διαφορετικών γεωμετριών ήταν η συχνότητα συντονισμού. Συγκεκριμένα, είναι επιθυμητή η υψηλή συχνότητα συντονισμού του πυκνωτή ώστε ο αισθητήρας να λειτουργεί σταθερά σε χαμηλότερη συχνότητα χωρίς να διαλύονται τα βιομόρια. Είναι επιπλέον πολύ σημαντικό η αύξηση της συγκέντρωσης των βιομορίων να επιφέρει και αύξηση της χωρητικότητας των πυκνωτών έως το σημείο κορεσμού του αισθητήρα. Τέλος, η διάταξη είναι επιθυμητό να προσφέρει στο δείγμα την δυνατότητα υδροδυναμικής συνένωσης.

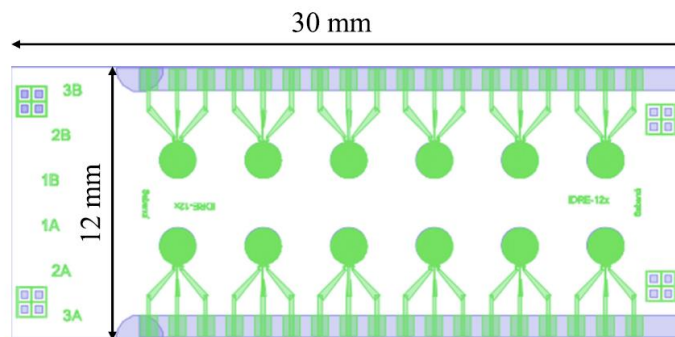
Με βάση τα παραπάνω κριτήρια, απορρίφθηκε η ορθογώνια διάταξη καθώς δεν προσφέρει υδροδυναμική συνένωση. Ανάμεσα στις δύο κυκλικές διατάξεις, η δεύτερη παρουσιάζει υψηλότερη συχνότητα συντονισμού, είναι πιο σταθερή στις χαμηλές συχνότητες όπου θα λειτουργεί ο αισθητήρας

και παρατηρείται ομαλή αύξηση της χωρητικότητας της με αύξηση της συγκέντρωσης των βιομορίων για όλα τα βιομόρια που εξετάστηκαν στη συγκεκριμένη έρευνα.



Εικόνα 24: Διατάξεις ηλεκτροδίων. (α) ημικυκλικά ηλεκτρόδια (β) κυκλικά ηλεκτρόδια (γ) ορθογώνια διάταξη [50].

Στη συνέχεια επιλέχθηκε να σχεδιαστούν δεκαεννέα ζευγάρια ηλεκτροδίων. Ο αριθμός αυτός επιλέχθηκε ώστε να υπάρχει αρκετή επιφάνεια για τον αναλύτη για να προκαλέσει ανιχνεύσιμη μεταβολή στη χωρητικότητα, ενώ ταυτόχρονα οι τελικές διαστάσεις του ενός πυκνωτή να ελαχιστοποιούνται για να χωρέσουν πολλαπλοί πυκνωτές στο ίδιο ολοκληρωμένο κύκλωμα διαστάσεων 30mm × 12mm. Το πάχος των ηλεκτροδίων και το κενό ανάμεσά τους επιλέχθηκε στα 150 nm και 10 μm αντίστοιχα, ενώ η κατασκευή τους έγινε με λιθογραφία και DC Sputtering. Η διάταξη που κατασκευάστηκε φαίνεται σχηματικά στην εικόνα 25.

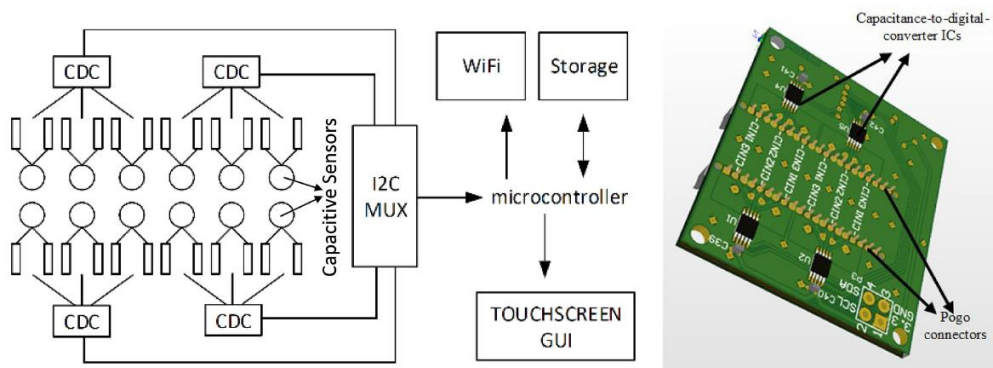


Εικόνα 25: Σχηματική αναπαράσταση των 12 κυκλικών πυκνωτών ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων [50].

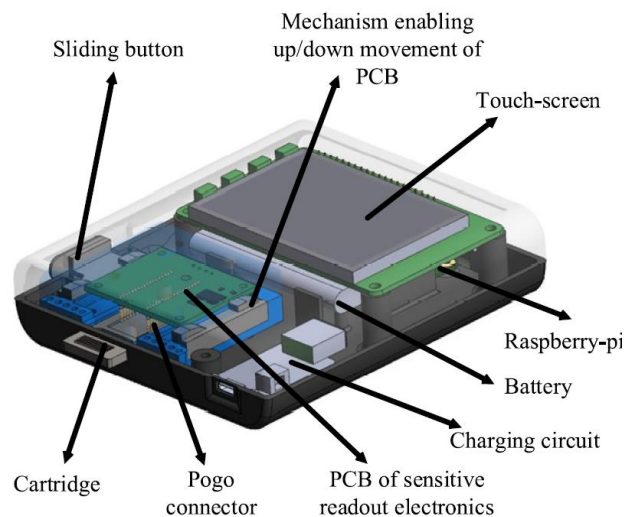


## Ολοκλήρωση της συσκευής:

Η συσκευή περιλαμβάνει μια μονάδα μικροελεγκτή Raspberry Pi Zero W, τέσσερις αναλογικούς σε ψηφιακούς μετατροπείς χωρητικότητας, κάθε ένας εκ των οποίων συνδέεται με τρεις πυκνωτές και έναν πολυπλέκτη που χρησιμοποιείται για να επιλεγθεί η τριάδα πυκνωτών που θα «αναγνωστεί» από το ηλεκτρονικό κύκλωμα ανάγνωσης (Read Out Circuit). Επιπλέον στη συσκευή βρίσκονται ενσωματωμένη μπαταρία και οθόνη αφής. Στην εικόνα 26 φαίνεται το block διάγραμμα της διάταξης, καθώς και η διαμόρφωση του PCB, ενώ στην εικόνα 27 απεικονίζεται η ολοκληρωμένη συσκευή.



Εικόνα 26: Block διάγραμμα της συσκευής και η διαμόρφωση του PCB [50].

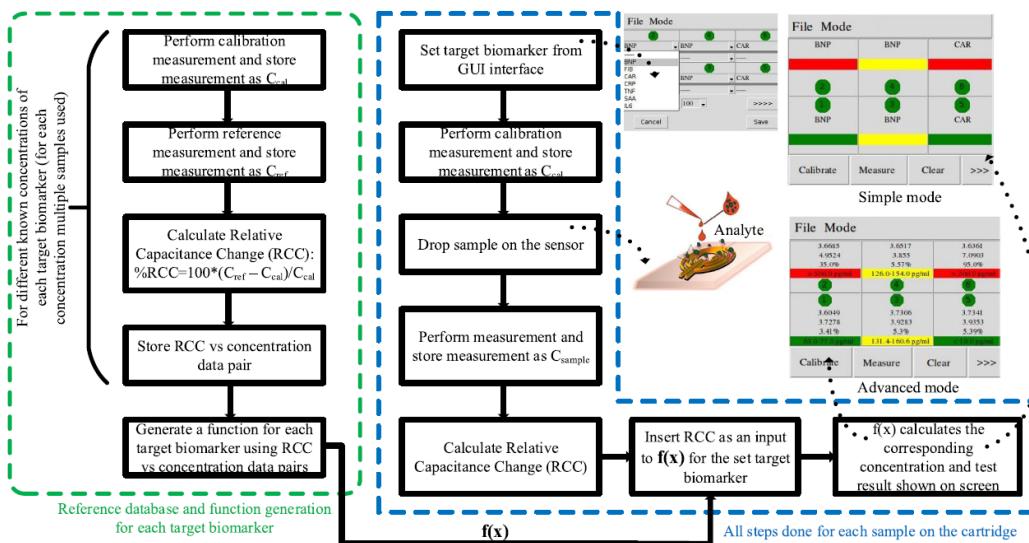


Εικόνα 27: Η ολοκληρωμένη συσκευή. Cartridge ονομάζεται η θήκη στην οποία αποθηκεύονται και προστατεύονται οι πυκνωτές [50].



## Λειτουργία του αισθητήρα:

Το διάγραμμα ροής λειτουργίας του αισθητήρα φαίνεται στην εικόνα 28. Αρχικά μετριέται η χωρητικότητα των πυκνωτών πριν και μετά την ακινητοποίηση των αντισωμάτων για τη βαθμονόμηση του αισθητήρα. Στη συνέχεια, εναποτίθενται στους πυκνωτές δείγματα των βιομορίων γνωστών συγκεντρώσεων. Η πρόσδεση του αναλύτη στον βιο-υποδοχέα προκαλεί μεταβολή στη διηλεκτρική σταθερά του πυκνωτή και άρα μεταβολή στη χωρητικότητα. Η μεταβολή στη χωρητικότητα μετά την εναπόθεση του δείγματος μετριέται και αποθηκεύεται σε μια βάση δεδομένων. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται για ευρύ φάσμα συγκεντρώσεων για όλους τους αναλύτες που εξετάζει η συγκεκριμένη έρευνα. Χρησιμοποιώντας τη βάση αναφοράς, φτιάχνεται πολυωνυμική συνάρτηση για κάθε αναλύτη που αντιστοιχίζει την σχετική μεταβολή της χωρητικότητας του πυκνωτή με τη νέα συγκέντρωση αναλύτη. Στη συνέχεια φαίνεται το διάγραμμα ροής της λειτουργίας του αισθητήρα.



Εικόνα 28: Διάγραμμα ροής της λειτουργίας του αισθητήρα [50].

## Αποτελέσματα:

Μετά από μέτρηση 20 διαφορετικών δειγμάτων αίματος από αληθινούς ασθενείς και για τους έξι αναλύτες, υπολογίστηκαν η ευαισθησία και η ακρίβεια του αισθητήρα για κάθε αναλύτη. Οι ερευνητές κατέληξαν ότι η συγκεκριμένη διάταξη δεν παρουσιάζει την ίδια ακρίβεια με τα εξειδικευμένα εργαστηριακά τεστ, αλλά το χαμηλό κόστος και η ευχρηστία της την καθιστούν κατάλληλη για την

πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας, όπου ο εξοπλισμός για τη διεξαγωγή των εργαστηριακών μετρήσεων εκλείπει. Τα αποτελέσματα φαίνονται αναλυτικά στον Πίνακα 1.

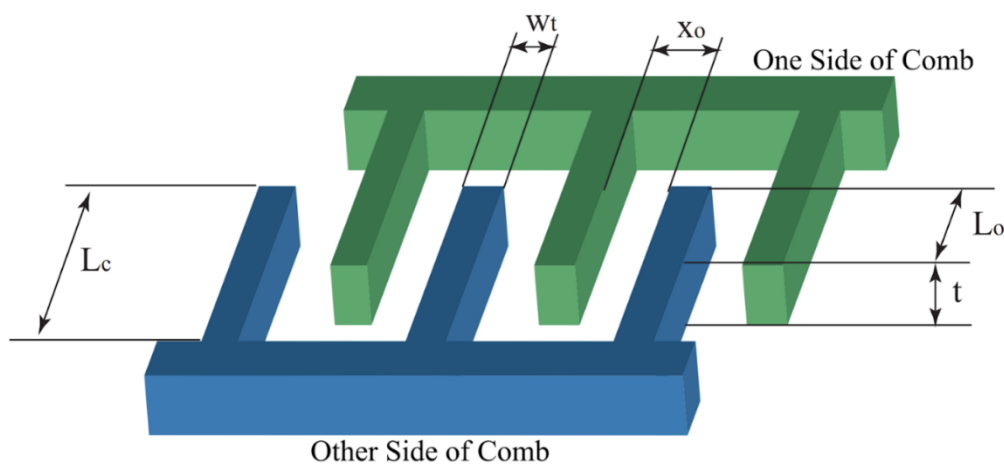
Πίνακας 1: Αποτελέσματα μετρήσεων δειγμάτων γνωστών συγκεντρώσεων με τη χρήση του αισθητήρα [50].

Color Code	Target Biomarker	Reported ASM <sup>1</sup> Hospital	Measured by PoC Device <sup>2</sup>	Ref. Value	Detection Range	Sensitivity	Accuracy <sup>3</sup>	Unit
Green	BNP	94	90-99	70-133	50-500	50	99.5%	pg/mL
Red	BNP	746	>500	70-133	50-500	50	NA	pg/mL
Green	SAA	<4	3.15-3.48	0-7	1-50	1	NA	mg/L
Red	SAA	9.7	9-10	0-7	1-50	1	98%	mg/L
Green	IL-6	<2	<2.5	0-5.9	2.5-20	2.5	NA	ng/L
Red	IL-6	18	15.4-17	0-5.9	2.5-20	2.5	90%	ng/L
Green	Fibrinogen	320.8	292-323	200-400	50-500	50	95.9%	mg/dL
Red	Fibrinogen	511.9	>500	200-400	50-500	50	NA	mg/dL
Green	Troponin-I	<10	<10	0-23	10-200	10	NA	pg/mL
Red	Troponin-I	1300	>200	0-23	10-200	10	NA	pg/mL
Yellow	TNF- $\alpha$	6.8	7.3-8.1	0-8.1	0.3-50	0.3	86.8%	ng/L
Red	TNF- $\alpha$	15.7	16.1-18	0-8.1	0.3-50	0.3	91.5%	ng/L

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: Ο πυκνωτής ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων

### 5.1 Περιγραφή:

Ο πυκνωτής που χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή της διάταξης είναι πυκνωτής ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων. Για το λόγο αυτό, αναλύεται περαιτέρω η λειτουργία του. Οι πυκνωτές ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων (InterDigitated Electrodes, IDEs) αποτελούνται από δύο ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια σε μικρό ή νάνο κλίμακα που σχηματίζουν μορφή χτένας όπως φαίνεται στην εικόνα 29.



Εικόνα 29: Σχηματική αναπαράσταση πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων με επικάλυψη μήκους  $L_o$ , ύψους  $t$ , πλάτος  $W_t$  και διάκενο  $X_o$  [51]

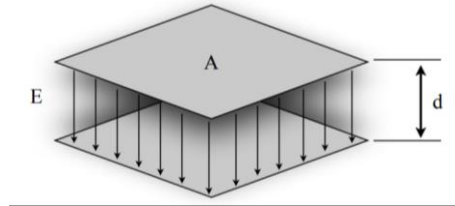
Ανάμεσα από τα ηλεκτρόδια υπάρχει διηλεκτρικό υλικό. Συνήθως, το ένα ηλεκτρόδιο βρίσκεται ακινητοποιημένο πάνω στο ολοκληρωμένο κύκλωμα, ενώ το δεύτερο είναι ελεύθερο να κινηθεί σε έναν ή περισσότερους άξονες. Το ακινητοποιημένο ηλεκτρόδιο συνήθως γειώνεται, ενώ στο κινούμενο εφαρμόζεται τάση. Λόγω της διαφοράς δυναμικού των ηλεκτροδίων, καθώς και του διηλεκτρικού που βρίσκεται ανάμεσά τους, δημιουργείται ένας σχεδόν επίπεδος πυκνωτής με το παραπάνω σχήμα.

Οι πυκνωτές ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων συνιστούν δημοφιλείς μετατροπείς και χρησιμοποιούνται ευρέως στο πεδίο των βιολογικών και χημικών αισθητήρων λόγω του χαμηλού κόστους παραγωγής τους, της ευκολίας κατασκευής τους και της υψηλής ευαισθησίας τους. Επιπλέον, το επίπεδο σχήμα τους, τους καθιστά κατάλληλους για χρήση σε ολοκληρωμένα κυκλώματα [52].

## 5.2 Αναλυτικός υπολογισμός της χωρητικότητας:

Η χωρητικότητα μεταξύ δύο παράλληλων μεταλλικών πλακών επιφάνειας  $A$ , απόστασης  $d$  που διαχωρίζονται με διηλεκτρικό υλικό σταθεράς  $\epsilon_r$ , όπως αυτών στην εικόνα 30, δίνεται από τον τύπο (6).

$$C = \epsilon_r \epsilon_0 \frac{A}{d} \quad (6)$$

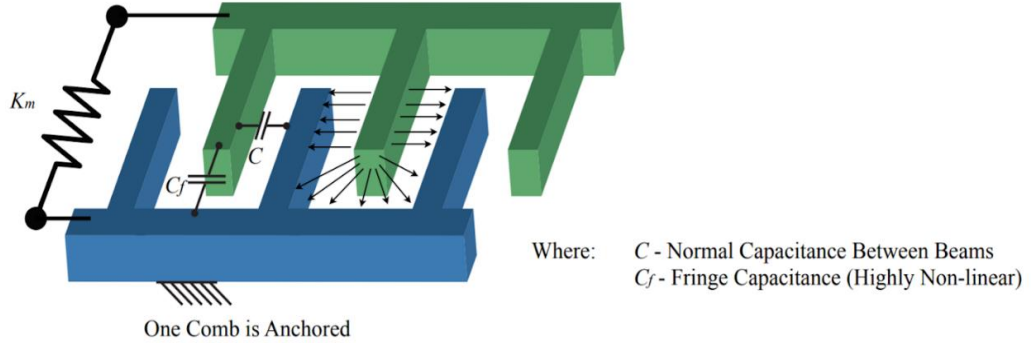


Εικόνα 30: Σχηματική αναπαράσταση πυκνωτή παράλληλων πλακών [51].

Η χωρητικότητα από τον παραπάνω τύπο δίνεται σε Farad, η απόσταση  $A$  μετριέται σε  $m^2$ , η απόσταση  $d$  σε  $m$ , η διηλεκτρική σταθερά  $\epsilon_0$  σε  $A^2 \cdot s^4 \cdot kg^{-1} \cdot m^{-3}$ , ενώ η σχετική διηλεκτρική σταθερά είναι καθαρός αριθμός. Αν κάθε ηλεκτρόδιο θεωρηθεί σαν μια πλάκα, τότε ο τύπος υπολογισμού της χωρητικότητας ενός πυκνωτή με  $n$  ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια που επικαλύπτονται για μήκος  $l_0$  σε  $m$  και έχουν ύψος  $t$  σε  $m$  είναι:

$$C_{sensor} = n \times \epsilon \times \frac{l_0 \times t}{d} \quad (7)$$

Η εξίσωση (7) ισχύει όταν το κενό μεταξύ των ηλεκτροδίων είναι αμελητέο σε σύγκριση με τις πλευρικές διαστάσεις του πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων. Διαφορετικά, τα περιθωριακά ηλεκτρικά πεδία (fringing fields) και άρα οι περιθωριακές χωρητικότητες, όπως φαίνονται στην εικόνα 31, δεν μπορούν να αγνοηθούν και πρέπει να συμπεριληφθούν στον υπολογισμό [53].



Εικόνα 31: Σχηματική αναπαράσταση του πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων με τα πεδία και τις χωρητικότητες που δημιουργούνται. Με  $C_f$  συμβολίζονται οι περιθωριακές χωρητικότητες [51]

Λόγω των πλεονεκτημάτων που παρουσιάζουν οι πυκνωτές ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων, στη βιβλιογραφία έχουν αναπτυχθεί πολλοί τρόποι αναλυτικού υπολογισμού των περιθωριακών χωρητικότητων. Ένας εξ αυτών είναι και η εξίσωση Palmer [53]:

$$C_f = \varepsilon \frac{WL}{G} \left( 1 + \frac{G}{\pi W} \left( 1 + \ln \left( \frac{2\pi W}{G} \right) \right) \right) \times \left( 1 + \frac{G}{\pi L} \left( 1 + \ln \left( \frac{2\pi L}{W} \right) \right) \right) \quad (8)$$

Όπου  $L$  το μήκος των ηλεκτροδίων,  $W$  το πλάτος των ηλεκτροδίων και  $G$  το διάκενο μεταξύ των ηλεκτροδίων σε  $m$  και  $C_f$  η περιθωριακή χωρητικότητα σε  $F$ .

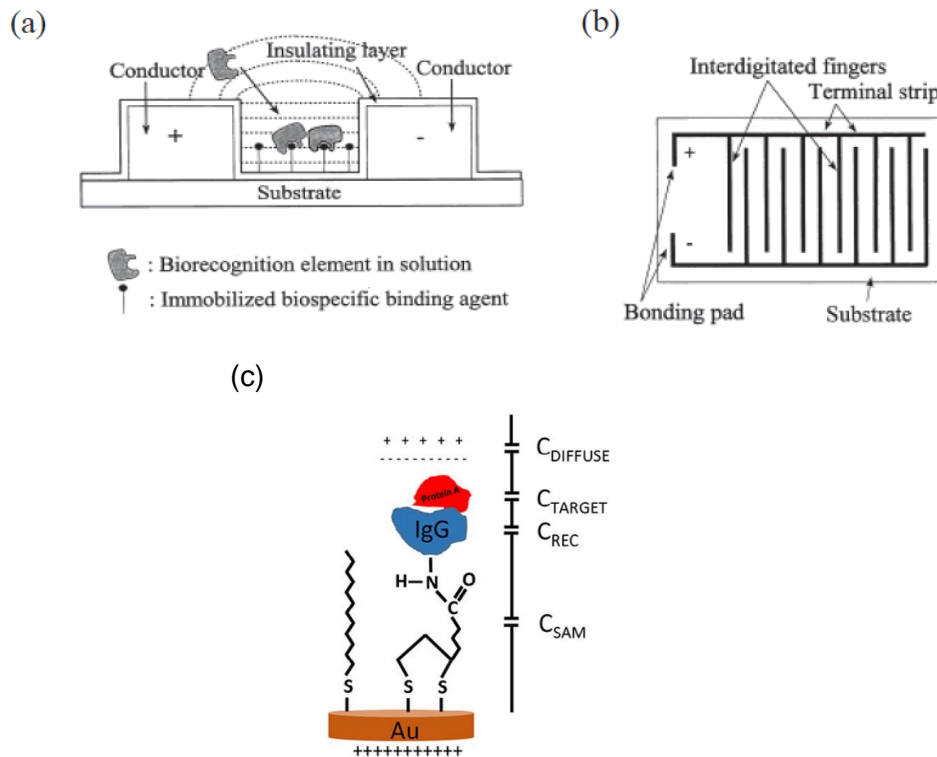
Επομένως η συνολική χωρητικότητα ενός πυκνωτή  $C_{sensor}$  με  $n$  ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια μπορεί να υπολογιστεί από τη σχέση:

$$C_{sensor} = n \times \varepsilon \times \frac{l_o \times t}{d} + C_f \quad (9)$$

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων των [53], ο αναλυτικός υπολογισμός της χωρητικότητας με την παραπάνω εξίσωση απέχει ελάχιστα από την τιμή που υπολογίζει ο προσομοιωτής.

### 5.3 Ο πυκνωτής ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων ως βιοαισθητήρας

Οι βιοαισθητήρες που περιλαμβάνουν πυκνωτές ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων βασίζουν τη λειτουργία της στη μέτρηση της μεταβολής της χωρητικότητας του πυκνωτή μετά την εναπόθεση του δείγματος. Συγκεκριμένα, στην επιφάνεια του πυκνωτή ακινητοποιείται κάποιος βιο-υποδοχέας, όπως κάποιο αντίσωμα, ένζυμο, πρωτεΐνη κ.α. Αφότου εναποτεθεί το δείγμα, ο αναλύτης λόγω της χημικής συγγένειας που παρουσιάζει με τον βιο-υποδοχέα, δεσμεύεται από αυτόν. Η πρόσδεση του αναλύτη στον ακινητοποιημένο βιο-υποδοχέα δημιουργεί διπλό στρώμα ιόντων γύρω από το μέταλλο του πυκνωτή και επομένως μεταβάλλει τη χωρητικότητά του [54]. Η μεταβολή της χωρητικότητας μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ποσοτικοποίηση της συγκέντρωσης του αναλύτη στο δείγμα που εναποτέθηκε [52]. Η σχηματική αναπαράσταση των παραπάνω φαίνεται στην εικόνα 32.



Εικόνα 32 : (α) Σχηματική αναπαράσταση της δέσμευσης του αναλύτη από τον βιο-υποδοχέα πάνω στην επιφάνεια του πυκνωτή. (β) Σχηματική αναπαράσταση ενός πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων [52] (γ) Η πρόσδεση της πρωτεΐνης πάνω στο αντίσωμα, το διπλό στρώμα ιόντων δημιουργείται και η μεταβολή στη χωρητικότητα [54]

## 5.4 Μέθοδος κατασκευής των πυκνωτών στο εργαστήριο

Τέτοιοι πυκνωτές μπορούν να κατασκευαστούν και στο Εργαστήριο Ηλεκτρονικών Αισθητηρίων του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου με τη μέθοδο της οπτικής λιθογραφίας και του Lift off. Στη συνέχεια θα παρουσιαστούν τα βήματα που απαιτούνται. Αρχικά, η διάταξη αποτελείται από ένα υπόστρωμα επικαλυμμένο με φωτοευαίσθητη ρητίνη, όπως αυτός της εικόνα 33.



Εικόνα 33: Τα αρχικά στρώματα της διάταξης. 1. Υπόστρωμα 2. Φωτοευαίσθητη ρητίνη [55]

### Έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία:

Η διάταξη εκτίθεται σε υπεριώδη ακτινοβολία για περίπου πέντε λεπτά. Λόγω της παρουσίας της μάσκας, η υπεριώδης ακτινοβολία επηρεάζει μόνο τη φωτοευαίσθητη ρητίνη που βρίσκεται κάτω από τα διαφανή σημεία της μάσκας.

### Εμφάνιση:

Στη συνέχεια απομακρύνεται η μάσκα και η διάταξη τοποθετείται σε διάλυμα developer. Με αυτόν τον τρόπο, η φωτοευαίσθητη ρητίνη που είχε προηγουμένως εκτεθεί στην υπεριώδη ακτινοβολία απομακρύνεται (positive resist), ενώ οι περιοχές της ρητίνης που δεν εκτέθηκαν στην ακτινοβολία λόγω της μάσκας παραμένουν πάνω στο κύκλωμα.

### Εναπόθεση μετάλλου:

Στη συνέχεια εναποτίθεται το αντίστοιχο μέταλλο με τη μέθοδο sputtering ή physical vapor deposition, δημιουργώντας ένα μεταλλικό στρώμα σε όλη την επιφάνεια του πυκνωτή.

### Καθαρισμός:

Η πλακέτα καθαρίζεται με ακετόνη που απομακρύνει η ρητίνη που έχει απομείνει και μαζί της να απομακρυνθούν οι περιοχές του μετάλλου που βρίσκονται πάνω από αυτήν. Τέλος η πλακέτα καθαρίζεται με προπανόλη.

Η διαδικασία αναπαρίσταται σχηματικά στην εικόνα 34.



Εικόνα 34 : Σχηματική αναπαράσταση των σταδίων της οπτικής λιθογραφίας και του Lift off. 1. Υπόστρωμα 2. Φωτοευαίσθητη ρητίνη 3. Στρώμα μετάλλου [55].



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: Μετρήσεις με διάλυμα BNP

### 6.1 Μετρήσεις με διάλυμα BNP

Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε υδατικά διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων BNP, ώστε να αξιολογηθεί η απόκριση της διάταξης. Χρησιμοποιήθηκε μετρητής χωρητικότητας (Fluke Capacitance Meter) σε συχνότητα 100kHz, αρχικά για τη μέτρηση της χωρητικότητας εν κενώ, στη συνέχεια παρουσία των αντισωμάτων BNP, και τέλος για διάφορες συγκεντρώσεις διαλύματος BNP.

#### 6.1.1 Απόκριση της διάταξης στο χρόνο:

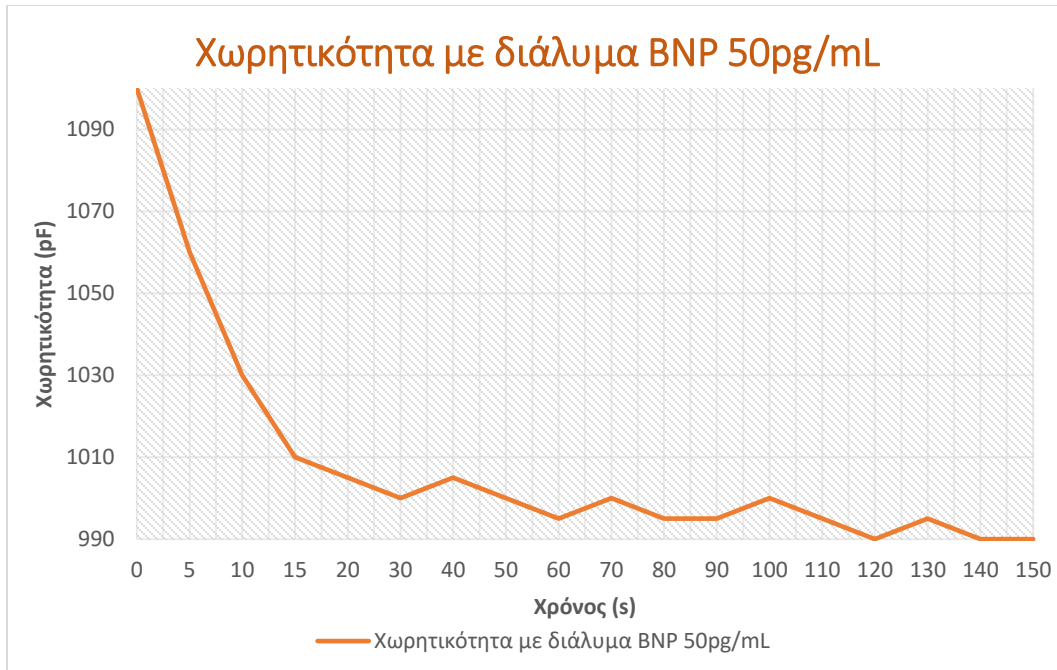
Αρχικά μετρήθηκε η χωρητικότητα εν κενώ, η οποία βρέθηκε ίση με 15pF. Στη συνέχεια, εναποτέθηκαν τα αντισώματα BNP και μετρήθηκε εκ νέου τη χωρητικότητα που βρέθηκε ίση με 1100pF, αύξηση αναμενόμενη λόγω της μεταβολής της διηλεκτρικής σταθεράς του διηλεκτρικού υλικού και άρα της μεταβολής της χωρητικότητας. Τέλος, εναποτέθηκε διάλυμα BNP συγκέντρωσης 50pg/mL πάνω στον πυκνωτή και μετρήθηκε η χωρητικότητα ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Η αλλαγή που παρατηρείται στη χωρητικότητα οφείλεται στους δεσμούς που δημιουργούν τα BNP με τα αντισώματα και προσκολλώνται στο υπόστρωμα του αισθητήρα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη μετατόπιση των ιόντων των αντισωμάτων και την αύξηση της απόστασης  $d$  μεταξύ των ηλεκτροδίων, συνεπώς και τη μείωση της χωρητικότητας [54]. Στον πίνακα 2 φαίνονται τα αποτελέσματα που ελήφθησαν.

Πίνακας 2: Μέτρηση της χωρητικότητας του πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων ανά τακτά χρονικά διαστήματα για 150 δευτερόλεπτα μετά την εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50pg/mL.

Χωρητικότητα (pF)	Χρόνος (s)
1100	0
1060	5
1030	10
1010	15
1005	20
1000	30
1005	40
1000	50
995	60
1000	70
995	80
995	90
1000	100
995	110
990	120
995	130
990	140
990	150

Ο χρόνος 0 s αναφέρεται στη χωρητικότητα του πυκνωτή πριν την εναπόθεση του διαλύματος BNP.

Παρατηρείται αρχικά γρήγορη μείωση και στη συνέχεια σταδιακή σταθεροποίηση της χωρητικότητας μετά τα 60 δευτερόλεπτα. Η μείωση της χωρητικότητας από τα 1100 pF στα 990 pF είναι ικανή για να ανιχνευθεί ακόμα και αυτή η πολύ μικρή συγκέντρωση BNP των 50pg/mL στο διάλυμα. Στη συνέχεια παρουσιάζονται τα παραπάνω δεδομένα και σε μορφή γραφήματος στην εικόνα 35.



Εικόνα 35: Σχηματική αναπαράσταση της αλλαγής της χωρητικότητας στο χρόνο μετά από εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50pg/mL. Η χωρητικότητα παραμένει σχετικά σταθερή μετά τα 60''.

Στη συνέχεια θα υπολογιστούν ο αριθμητικός, ο γεωμετρικός και αρμονικός μέσος όρος, η διασπορά, η τυπική απόκλιση και το περιθώριο λάθους.

$$\text{Αριθμητικός Μέσος Όρος} = \mu = \frac{\sum_{n=1}^{17} C_i}{n} \quad (10)$$

$$\text{Γεωμετρικός Μέσος Όρος} = \sqrt[n]{\prod_{n=1}^{17} C_i} \quad (11)$$

$$\text{Αρμονικός Μέσος Όρος} = \frac{n}{\sum_{n=1}^{17} \frac{1}{C_i}} \quad (12)$$

$$\text{Διασπορά} = \sigma^2 = \frac{\sum (C_i - \mu)^2}{n} \quad (13)$$

$$\text{Τυπική απόκλιση} = \sigma = \sqrt{\frac{(C_i - \mu)^2}{n}} \quad (14)$$

$$\text{Περιθώριο λάθους} = \sigma_x = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (15)$$

Όπου  $C_i$ , η μετρούμενη χωρητικότητα και  $n$  ο αριθμός των μετρήσεων, δηλαδή 17.

Στους υπολογισμούς δε συμπεριλήφθηκε η τιμή της χωρητικότητας για χρόνο 0 s, δηλαδή πριν την εναπόθεση του διαλύματος BNP. Στον πίνακα 3 φαίνονται οι υπολογισμοί που έγιναν με Excel.

Πίνακας 3: Ενδιάμεσοι και τελικοί υπολογισμού των ποσοτήτων

Χωρητικότητα (pF)	Χρόνος (s)	1/Ci (1/pF)	(Ci-μ) <sup>2</sup> (pF <sup>2</sup> )	Αριθμητικός μέσος όρος (pF)
1100	0			1003,235294
1060	5	0,000943396	3222,231847	Γεωμετρικός μέσος όρος (pF): 1003,095334
1030	10	0,000970874	716,3494873	
1010	15	0,000990099	45,76124727	Άθροισμα 1/Ci (1/pF)
1005	20	0,000995025	3,114187266	0,016949847
1000	30	0,001	10,46712727	Αρμονικός μέσος όρος (pF)
1005	40	0,000995025	3,114187266	1002,95888
1000	50	0,001	10,46712727	Άθροισμα (Ci-m) <sup>2</sup> (pF <sup>2</sup> )
995	60	0,001005025	67,82006727	4897,058824
1000	70	0,001	10,46712727	Διασπορά (pF <sup>2</sup> )
995	80	0,001005025	67,82006727	288,0622837
995	90	0,001005025	67,82006727	Τυπική απόκλιση (pF)
1000	100	0,001	10,46712727	16,9723977
995	110	0,001005025	67,82006727	Περιθώριο λάθους (pF)
990	120	0,001010101	175,1730073	4,116411085
995	130	0,001005025	67,82006727	
990	140	0,001010101	175,1730073	
990	150	0,001010101	175,1730073	

Τα αποτελέσματα των υπολογισμών φαίνονται στη συνέχεια:

$$\text{Αριθμητικός Μέσος Όρος} = \mu \cong 1003,2 \text{ pF}$$

$$\text{Γεωμετρικός Μέσος Όρος} \cong 1003,1 \text{ pF}$$

$$\text{Αρμονικός Μέσος Όρος} \cong 1003 \text{ pF}$$

$$\text{Διασπορά} = \sigma^2 \cong 288,0622837 \text{ pF}^2$$

$$\text{Τυπική απόκλιση} = \sigma \cong 16,9723977 \text{ pF}$$

$$\text{Περιθώριο λάθους} = \sigma_x = 4,116411085 \text{ pF}$$

### 6.1.2 Βαθμονόμηση του αισθητήρα:

Στη συνέχεια ακολούθησε η βαθμονόμηση του αισθητήρα. Εναποτέθηκαν πάνω στον πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων διαλύματα BNP διαφόρων συγκεντρώσεων και έπειτα από 60 δευτερόλεπτα μετρήθηκε η χωρητικότητα. Πιο συγκεκριμένα, τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν συγκεντρώσεων 50, 100, 150, 200 και 250 pg/mL. Ο χρόνος αναμονής των 60 δευτερολέπτων επιλέχθηκε διότι στο προηγούμενο πείραμα τότε παρατηρήθηκε ικανοποιητική σταθεροποίηση της απόκρισης.

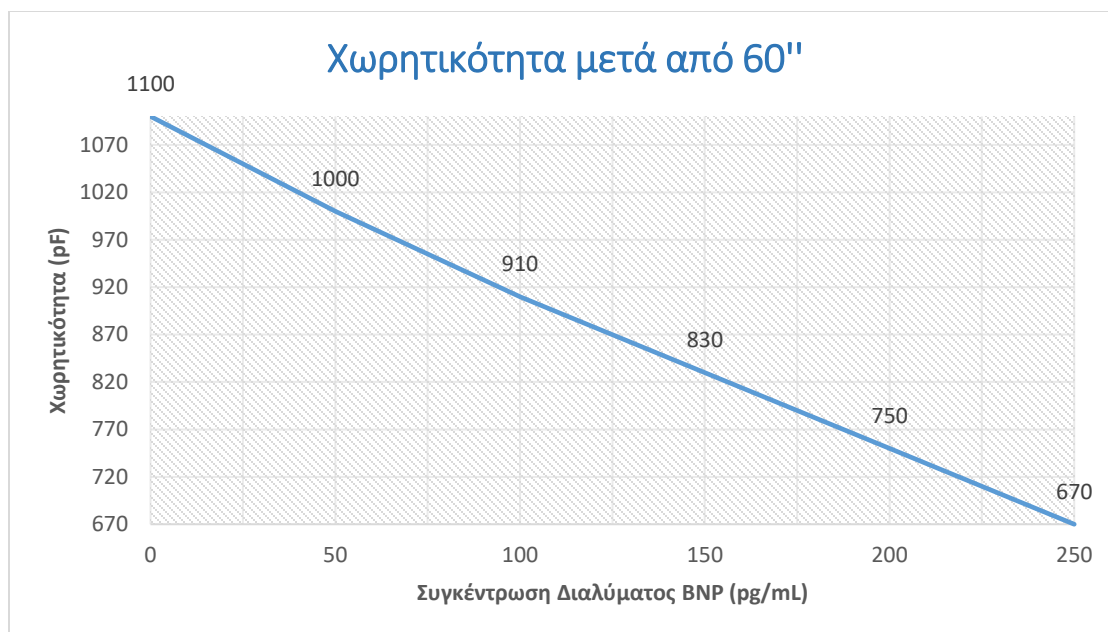
Για την πλήρη βαθμονόμηση του αισθητήρα, θα έπρεπε να εκτελεστεί η παραπάνω διαδικασία για τιμές συγκέντρωσης έως και 20.000 pg/mL. Προφανώς όμως αυτό δεν είναι εφικτό στα πλαίσια της διπλωματικής εργασίας. Παρ' όλα αυτά, οι παραπάνω τιμές μπορούν δίνουν μια καλή πρώτη εικόνα για τη δυνατότητα του αισθητήρα. Στον πίνακα 4 φαίνονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων και στην εικόνα 36 αναπαρίστανται γραφικά.

Πίνακας 4: Η μέτρηση της χωρητικότητας του πυκνωτή 60'' μετά την εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50, 100, 150, 200, 250 pg/mL.

BNP (pg/mL)	Χωρητικότητα στα 60'' (pF)
0	1100
50	1000
100	910
150	830
200	750
250	670

Η ευαισθησία του αισθητήρα υπολογίζεται από την κλίση της καμπύλης βαθμονόμησης.

$$\text{Ευαισθησία} = 1,6 \text{ pF/pg/mL}$$



Εικόνα 36: Γραφική αναπαράσταση της τιμής της χωρητικότητας του πυκνωτή 60'' μετά την εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50, 100, 150, 200, 250 pg/mL. Παρατηρείται γνήσια φθίνουσα σχέση μεταξύ των δύο μεγεθών.

Στο παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται μια γνήσια φθίνουσα εξάρτηση της χωρητικότητας από τη συγκέντρωση BNP. Συγκεκριμένα, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση BNP στο διάλυμα, τόσο περισσότερο μειώνεται η χωρητικότητα του πυκνωτή. Για το συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων, η σχέση ανάμεσα στη χωρητικότητα και στη συγκέντρωση BNP φαίνεται να είναι γραμμική. Η μεταβολή στη χωρητικότητα οφείλεται στη δέσμευση των BNP από τα αντισώματά τους, πάνω στην επιφάνεια του πυκνωτή. Επομένως, ο αισθητήρας αυτός είναι σε θέση, όχι μόνο να ανιχνεύει την ύπαρξη BNP ποιοτικά, αλλά αποτελεί και ποσοτικό δείκτη της συγκέντρωσης του BNP στο διάλυμα.

## 6.2 Σχόλια και παρατηρήσεις:

### 6.2.1 Πλεονεκτήματα της διάταξης:

Η διάταξη αυτή παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα. Αρχικά, πρόκειται για έναν αισθητήρα ο οποίος εξάγει αποτελέσματα τάχιστα. Συγκεκριμένα, οι εργαστηριακές μετρήσεις έδειξαν ότι 60 δευτερόλεπτα από την εναπόθεση του δείγματος αρκούν για τη μέτρηση της χωρητικότητας. Η απόκριση αυτή είναι σαφώς ταχύτερη από τις παραδοσιακές μεθόδους μέτρησης BNP, που αναλύθηκαν στο κεφάλαιο 3, οι οποίες χρειάζονται ώρες ή και μέρες για να βγάλουν αποτελέσματα. Δεδομένου της κρισιμότητας των

οξέων συνδρόμων καρδιακής ανεπάρκειας καθώς και της καίριας θέσης που κατέχει ο βιοδείκτης BNP σε αυτές τις περιπτώσεις, η άμεση διαθεσιμότητα του αποτελέσματος της εξέτασης του ασθενούς είναι μείζονος σημασίας για τη σωστή και έγκαιρη λήψη αποφάσεων από το ιατρικό προσωπικό.

Επιπρόσθετα, σημαντικό πλεονέκτημα συνιστά η ευχρηστία αυτής της τεχνολογίας. Για τη χρήση ενός τέτοιου αισθητήρα δε χρειάζεται ούτε εξειδικευμένο εργαστηριακό προσωπικό ούτε κάποιος πολύπλοκος εξοπλισμός.

Ένα άλλο πλεονέκτημα της τεχνολογίας αυτής αποτελεί το μικρό της μέγεθος και η δυνατότητα αυτοματοποίησης της. Η ενσωμάτωση του πυκνωτή σε μια διάταξη με έναν μικροελεγκτή και μια οθόνη θα δημιουργήσει μια συσκευή ικανή να μετράει και να εξάγει αποτελέσματα αυτόματα, ενώ ταυτόχρονα το μέγεθός της θα επιτρέπει το κράτημα της στο ένα χέρι. Επομένως, η υιοθέτηση της συγκεκριμένης τεχνολογίας θα επιτρέψει τη δημιουργία συσκευών για τη μέτρηση του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου, ενδεχομένως και από τον ίδιο τον ασθενή, έξω από το νοσοκομειακό περιβάλλον. Δεδομένου ότι η σειριακή μέτρηση του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου του ασθενούς καρδιακής ανεπάρκειας μπορεί να δώσει σημαντικές προγνωστικές πληροφορίες και να διευκολύνει την παρακολούθησή του, όπως αναλύθηκε στο Κεφάλαιο 2, η δυνατότητα της τεχνολογίας αυτής να αυτοματοποιηθεί την καθιστά πολύ ελκυστική εναλλακτική των κλασικών μεθόδων μέτρησης.

Τέλος, όλα τα παραπάνω καθίστανται δυνατά, λόγω του χαμηλού κόστους της διάταξης αυτής. Ο πυκνωτής ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων, παρόλο που συνήθως κατασκευάζεται από χρυσό που αποτελεί ακριβό μέταλλο, έχει τόσο μικρές διαστάσεις που αυξάνει ανεπαίσθητα το συνολικό κόστος της διάταξης. Επιπλέον, η τεχνολογία κατασκευής τέτοιων πυκνωτών μπορεί να γίνει με την τεχνική της οπτικής λιθογραφίας, τεχνική που έχει μελετηθεί και χρησιμοποιείται ευρέως για τη δημιουργία ολοκληρωμένων κυκλωμάτων. Επιπλέον, η ενσωμάτωση ενός μικροελεγκτή και των απαραίτητων περιφερειακών, όπως μια οθόνη για την ανάγνωση των αποτελεσμάτων ή μια διεπαφή χρήστη, δεν αποτελούν πλέον ακριβά εξαρτήματα. Επομένως, η τιμή των απαραίτητων υλικών, το κόστος της τεχνολογίας κατασκευής καθώς και των εξαρτημάτων είναι τέτοια που επιτρέπουν τη διαθεσιμότητα μιας συσκευής μέτρησης εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου στο ευρύ κοινό.

### **6.2.2. Δυνατότητα χρήσης της διάταξης για μέτρηση άλλων ουσιών:**

Η συγκεκριμένη τεχνολογία βασίζεται στη μεταβολή της χωρητικότητας που προκαλεί η δέσμευση των μορίων εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου από το αντίσωμά του που βρίσκεται ακινητοποιημένο στην επιφάνεια του πυκνωτή. Συγκεκριμένα, έγινε ακινητοποίηση των αντισωμάτων και μετρήθηκε η χωρητικότητα. Ακολούθως, με την εναπόθεση δείγματος εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου στην

επιφάνεια του πυκνωτή, ξεκίνησε η δημιουργία δεσμών μεταξύ του BNP και των αντισωμάτων του. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μεταβολή της διηλεκτρικής σταθεράς της επιφάνειας, και επομένως την αλλαγή της χωρητικότητας.

Επομένως, η τεχνολογία αυτή είναι πολύ πιθανό να μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για άλλα βιομόρια, αρκεί στην επιφάνεια του αισθητήρα να ακινητοποιηθεί ο κατάλληλος βιο-υποδοχέας, ώστε να μπορεί να γίνει η πρόσδεση του αναλύτη. Το πλεονέκτημα των αισθητήρων που βασίζονται σε δεσμούς αντισωμάτων είναι η υψηλή εκλεκτικότητα του δεσμού. Επομένως, η μεταβολή που παρατηρείται οφείλεται κατά κύριο λόγο στην ύπαρξη του αναλύτη, χωρίς να επηρεάζεται από άλλα βιομόρια που μπορεί να συνυπάρχουν στο διάλυμα.

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3, με τον αισθητήρα πυκνωτών ενδοδιαπλεκόμενων κυκλικών ηλεκτροδίων [50], τεχνολογία αρκετά παρόμοια με αυτήν την παρούσας διπλωματικής, μετρήθηκαν με υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα τα εξής έξι διαφορετικά βιομόρια BNP, SAA, IL-6, Fibrinogen, Troponin-I και TNF- $\alpha$ , τα οποία αφορούν καρδιαγγειακές νόσους και καρκινικές παθήσεις. Επομένως, η επένδυση στην μελέτη και στη βελτιστοποίηση της τεχνολογίας αυτής μπορεί να χρησιμεύσει για τη δημιουργία πλήθους αισθητήρων διαφορετικών βιομορίων.

### **6.2.3 Μειονεκτήματα της διάταξης:**

Η διάταξη αυτή, όπως και μεγάλο ποσοστό των βιοαισθητήρων, βασίζει τη λειτουργία της στην αλληλεπίδραση αντισώματος-αντιγόνου. Η αλληλεπίδραση αυτή έχει μελετηθεί ευρέως για δεκαετίες προσφέροντας ατελείωτη βιβλιογραφία αλλά και μαζική παραγωγή των αντιδραστηρίων. Επιπλέον, η υψηλή εκλεκτικότητα που διαθέτουν οι δεσμοί αντισώματος-αντιγόνου από τη φύση τους, καθιστά την τεχνολογία αυτή σχεδόν ιδανική για εφαρμογές βιοαισθητήρων. Επομένως, δεν είναι παράξενο που τα αντισώματα αποτελούν τόσο δημοφιλή επιλογή για τη δημιουργία βιοαισθητήρων, αφού είναι άμεσα διαθέσιμα και έχουν προβλέψιμη συμπεριφορά, λόγω της εκτεταμένης μελέτης τους.

Παρ' όλα αυτά, η χρήση των αντισωμάτων ενέχει μερικούς περιορισμούς. Αρχικά, η ικανότητα δέσμευσης των αντισωμάτων εξαρτάται άμεσα από τις συνθήκες στην επιφάνεια του αισθητήρα, όπως το pH ή η θερμοκρασία. Διακύμανση στις συνθήκες του περιβάλλοντος μπορεί επομένως να επηρεάσει την ευαισθησία μιας τέτοιας διάταξης. Επιπλέον, είναι δύσκολο να επιμηκυνθεί η διάρκεια ζωής τους, γεγονός που δεν επιτρέπει την μαζική παραγωγή, εμπορευματοποίηση και αποθήκευση τέτοιων αισθητήρων [56].

Λόγω των παραπάνω μειονεκτημάτων που παρουσιάζει η χρήση των αντισωμάτων, η έρευνα έχει προσανατολιστεί στην εύρεση εναλλακτικών βιο-υποδοχέων. Μεταξύ άλλων, έχουν μελετηθεί ένζυμα,



πεπτίδια, παράγωγα νουκλεϊκών οξέων, όπως τα απταμερή, βακτηριοφάγα κ.α. Από τους εναλλακτικούς βιο-υποδοχείς, τα παράγωγα νουκλεϊκών οξέων φαίνεται να πληρούν τις περισσότερες προϋποθέσεις. Συγκεκριμένα, το κόστος παραγωγής των βιομορίων αυτών είναι αρκετά χαμηλότερο των αντισωμάτων, ενώ παρουσιάζουν καλή σταθερότητα και μικρότερο μοριακό βάρος. Επιπλέον, σε μερικές έρευνες, τα παράγωγα νουκλεϊκών οξέων έχουν επιδείξει βιοχημική συγγένεια συγκρίσιμη με αυτή των αντισωμάτων.

Για την ώρα, τα αντισώματα θα συνεχίσουν να καταλαμβάνουν τα μεγαλύτερο μέρος της αγοράς των βιοαισθητήρων, λόγω της υψηλής βιοχημικής συγγένειας και εκλεκτικότητας που προσφέρουν, καθώς και της εκτενούς βιβλιογραφίας που έχει δημιουργηθεί γύρω από τις εφαρμογές τους. Παρ' όλα αυτά, η ανάγκη για συσκευές Point of Care που θα καταστήσουν διαθέσιμες και χρήσιμες στο ευρύ κοινό τις ευαίσθητες τεχνικές μέτρησης βιομορίων που έχουν αναπτυχθεί την τελευταία δεκαετία, θα πυροδοτήσει περαιτέρω έρευνα για την εύρεση των κατάλληλων εναλλακτικών βιο-υποδοχέων.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: Επίλογος

### 7.1 Σύνοψη και συμπεράσματα:

Στην παρούσα διπλωματική, αρχικά παρουσιάστηκε η νόσος της καρδιακής ανεπάρκειας και αξιολογήθηκαν οι παραδοσιακές μεθόδους διάγνωσης και παρακολούθησης των ασθενών που πάσχουν από αυτήν. Στη συνέχεια, έγινε αναφορά στη σημασία των βιοδεικτών και συγκεκριμένα του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου, τόσο για τα οξέα σύνδρομα όσο και για τους χρόνιους ασθενείς. Ακολούθως παρουσιάστηκαν οι τελευταίες καινοτομίες στο χώρο των Point of Care αισθητήρων BNP. Έπειτα κατασκευάστηκε διάταξη ανίχνευσης του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου βασιζόμενη σε πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων. Συγκεκριμένα, η εναπόθεση δείγματος του αναλύτη πάνω στον πυκνωτή προκαλεί μετρήσιμη μεταβολή στη χωρητικότητα του. Η διάταξη δίνει γρήγορα αποτελέσματα, αφού σε μόλις 60 δευτερόλεπτα μπορεί να μετρηθεί η μεταβολή που προκάλεσε η εναπόθεση του δείγματος. Επιπλέον, οι μετρήσεις μετά από εναπόθεση διαλύματος BNP συγκέντρωσης 50, 100, 150, 200, 250 pg/mL, έδειξαν αντιστρόφως ανάλογη εξάρτηση της χωρητικότητας από τη συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα. Η εξάρτηση φαίνεται να είναι σχεδόν γραμμική, τουλάχιστον για αυτό το μικρό εύρος συγκεντρώσεων. Επομένως, η διάταξη λειτούργησε όπως αναμενόταν.

### 7.2 Μελλοντική Εργασία:

Παρ' όλο που το πείραμα της παρούσας διπλωματικής εργασίας διεξήχθη με επιτυχία, η διάταξη που κατασκευάστηκε δεν αποτελεί προϊόν έτοιμο για την αγορά. Προκειμένου η τεχνολογία αυτή να συμπεριληφθεί στη δημιουργία μιας Point of Care συσκευής χρειάζονται ακόμη μερικά στάδια μελέτης, σχεδίασης και βελτιστοποίησης. Συγκεκριμένα, χρειάζεται ακόμη:

- Να μελετηθούν και να δοκιμαστούν εναλλακτικές γεωμετρίες του πυκνωτή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων για το συγκεκριμένο βιομόριο, με σκοπό την εύρεση της βέλτιστης.
- Να μελετηθούν και να δοκιμαστούν τεχνικές ακινητοποίησης των αντισωμάτων πάνω στον πυκνωτή, ώστε να βρεθεί η βέλτιστη.
- Να γίνουν δοκιμές με πραγματικό ολικό δείγμα αίματος από ασθενείς, ώστε να εξακριβωθεί η σωστή λειτουργία της διάταξης ακόμα και παρουσία άλλων ενώσεων.

- Να εξακριβωθεί η επαναληψιμότητα της διάταξης και η ακρίβεια του.
- Να βαθμονομηθεί σε μεγαλύτερο εύρος συγκεντρώσεων, αφού η συγκέντρωση BNP στο αίμα μπορεί να ξεπεράσει και τα 1.800pg/mL.
- Να υπολογιστεί η εκλεκτικότητα της διάταξης.
- Να υπολογιστεί το εύρος ανίχνευσης της διάταξης.
- Να εξεταστεί η ικανότητα της διάταξης να προσαρμοστεί ώστε να ανιχνεύει άλλα βιομόρια.
- Να εξεταστεί η δυνατότητα δημιουργίας Point of Care συσκευής με ενσωματωμένο μικροελεγκτή, οθόνη και ηλεκτρονικό κύκλωμα ανάγνωσης, ώστε να καταστεί δυνατή η μέτρηση χωρίς περαιτέρω εξοπλισμό.
- Να μελετηθεί η δυνατότητα δημιουργίας μιας εμφυτεύσιμης συσκευής για συνεχή μέτρηση του BNP, η οποία θα αποστέλλει δεδομένα μέσω Bluetooth σε ένα κινητό ή υπολογιστή. Τέτοια συσκευή εγκρίθηκε το 2018 από το FDA (Food and Drug Administration) για τη συνεχή μέτρηση της γλυκόζης.

Καθώς η έρευνα στον τομέα της βιοτεχνολογίας προχωράει, νέοι βιοδείκτες ανακαλύπτονται ενισχύοντας την εφεύρεση καινοτόμων θεραπειών και εφαρμογών. Ταυτόχρονα, μελετώνται και αναπτύσσονται πολλές μέθοδοι ανίχνευσης και μέτρησης βιομορίων που παρουσιάζουν υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα, αλλά δεν μπορούν να καταστούν διαθέσιμες στο ευρύ κοινό. Η διαθεσιμότητα συσκευών Point of Care που ενσωματώνουν τις καινοτόμες μεθόδους ανίχνευσης και μέτρησης βιοδεικτών ανοίγουν το δρόμο προς την εξατομικευμένη ιατρική, δηλαδή την παροχή ιατρικής φροντίδας που βασίζεται λιγότερο σε τυποποιημένα πρωτόκολλα και περισσότερο στον ίδιο τον ασθενή. Είναι συμφέρον όλων, η έρευνα και η καινοτομία στον τομέα των βιοχημικών αισθητήρων και τον Point of Care συσκευών να μη μείνει πίσω.

## Βιβλιογραφία

- [1] M. Urbich, G. Globe, K. Pantiri et al. A Systematic Review of Medical Costs Associated with Heart Failure in the USA (2014-2020). *Pharmacoeconomics*, 2020, doi:10.1007/s40273-020-00952-0
- [2] H. Alawieh, T. E. Chemaly, S. Alam and M. Khraiche. Towards Point-of-Care Heart Failure Diagnostic Platforms: BNP and NT-proBNP Biosensors, *Sensors* (Basel), 2019, doi: <https://doi.org/10.3390/s19225003>
- [3] P. Ponikowski, A. A. Voors, S. D. Anker, H. Bueno, J. G. F. Cleland, A. J. S. Coats, V. Falk, J. R. González-Juanatey, V. Harjola, E. A. Jankowska, M. Jessup, C. Linde, P. Nihoyannopoulos, J. T. Parissis, B. Pieske, J. P. Riley, G. M. C. Rosano, L. M. Ruilope, F. Ruschitzka, F. H. Rutten and P. van der Meer, 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC), ESC Scientific Document Group, Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC, *European Heart Journal*, Volume 37, Issue 27, 14 July 2016, Pages 2129–2200, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehw128>
- [4] S. S. Virani, A. Alonso, E. J. Benjamin, M. S. Bittencourt, C. W. Callaway, A. P. Carson, A. M. Chamberlain, A. R. Chang, S. Cheng, F. N. Delling, L. Djousse, M. S. V. Elkind, J. F. Ferguson, M. Fornage, S. S. Khan, B. M. Kissel, K. L. Knutson, T. W. Kwan, D. T. Lackland, T. T. Lewis, J. H. Lichtman, C. T. Longenecker, M. S. Loop, P. L. Lutsey, S. S. Martin, K. Matsushita, A. E. Moran, M. E. Mussolino, A. M. Perak, W. D. Rosamond, G. A. Roth, U. K. A. Sampson, G. M. Satou, E. B. Schroeder, S. H. Shah, C. M. Shay, N. L. Spartano, A. Stokes, D. L. Tirschwell, L. B. Van Wagner and C. W. Tsao, Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association, American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee., *Circulation*. 2020 Mar 3;141(9):e139-e596. doi: <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000757>
- [5] A. Groenewegen, F. H. Rutten, A. Mosterd, A. W. Hoes, Epidemiology of heart failure, *European Journal of Heart Failure*, Volume 22 Issue 8, Pages 1342-1356, doi: <https://doi.org/10.1002/ejhf.1858>
- [6] J. J. McMurray and S. Stewart. Epidemiology, aetiology, and prognosis of heart failure, *Heart*, 2000, doi: <http://dx.doi.org/10.1136/heart.83.5.596>

- [7] B. Ziaeeian and G. C. Fonarow, Epidemiology and aetiology of heart failure. *Nat Rev Cardiol.* 2016, doi: <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2016.25>
- [8] D. P. Zipes, P. Libby, R. O. Bonow, D. L. Mann, G. F. Tomaselli. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, Elsevier, Eleventh Edition, 2018, Two-Volume Set ISBN: 978-0-323-46342-3, Single Volume ISBN: 978-0-323-46299-0, International Edition ISBN: 978-0-323-55592-0
- [9] Θ. Μ. Κωλέττης. *Παθοφυσιολογία της καρδιάς*, ΣΕΑΒ, 2015 ISBN: 978-960-603-354-4
- [10] A. A. Inamdar and A. C. Inamdar. Heart Failure: Diagnosis, Management and Utilization, *J Clin Med*, 2016, doi: <https://doi.org/10.3390/jcm5070062>
- [11] C. W. Yancy, M. Jessup, B. Bozkurt, J. Butler, D. E. Casey, M. H. Drazner, G. C. Fonarow, S. A. Geraci, T. Horwich, J. L. Januzzi, M. R. Johnson, E. K. Kasper, W. C. Levy, F. A. Masoudi, P. E. McBride, J. J.V. McMurray, J. E. Mitchell, P. N. Peterson, B. Riegel, F. Sam, L. W. Stevenson, W. H. W. Tang, E. J. Tsai and B. L. Wilkoff. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure, American Heart Association, Inc., 2013, Volume 128, Issue 16, 15 October 2013; Pages e240-e32. doi: <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e31829e8776>
- [12] R. J. Desai, M. Mahesri, K. Chin, R. Levin, R. Lahoz, R. Studer, M. Vaduganathan, E. Paterno, Epidemiologic Characterization of Heart Failure with Reduced or Preserved Ejection Fraction Populations Identified Using Medicare Claims, *The American Journal of Medicine*, Volume 134, Issue 4, 2021, Pages e241-e251, ISSN 0002-9343, doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2020.09.038>
- [13] J. Webb, J. Draper, L. Fovargue, B. Sieniewicz, J. Gould, S. Claridge, C. Barton, S. Smith, K. Tondel, R. Rajani, S. Kapetanakis, C. A. Rinaldi, T. A. McDonagh, R. Razavi and G. Carr-White. Is heart failure with mid range ejection fraction (HFmrEF) a distinct clinical entity or an overlap group? *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijcha.2018.06.001>
- [14] A. Rastogi, E. Novak, A. E. Platts and D. L. Mann. Epidemiology, pathophysiology and clinical outcomes for heart failure patients with a mid-range ejection fraction, *Eur J Heart Fail*, 2017, doi: <https://doi.org/10.1002/ejhf.879>
- [15] Eithne M. Maguire, Stuart W.A. Pearce, Qingzhong Xiao, Foam cell formation: A new target for fighting atherosclerosis and cardiovascular disease, *Vascular Pharmacology*, Volume 112, 2019, Pages 54-71, ISSN 1537-1891, doi: <https://doi.org/10.1016/j.vph.2018.08.002>

- [16] A. Lala, A.S. Desai, The Role of Coronary Artery Disease in Heart Failure, Heart Failure Clinics, Volume 10, Issue 2, 2014, Pages 353-365, ISSN 1551-7136, ISBN 9780323296946, doi: <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2013.10.002>
- [17] R. S. Velagaleti, M. J. Pencina, J. M. Murabito, T. J. Wang, N. I. Parikh, R. B. D'Agostino, D. Levy, W. B. Kannel and R. S. Vasan, Long-Term Trends in the Incidence of Heart Failure After Myocardial Infarction, American Heart Association, 2008, doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.784215>
- [18] O. A. Carretero and S. Oparil. Originally, Essential Hypertension, Part I: Definition and Etiology, American Heart Association, 2000, doi: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.101.3.329>
- [19] D.M. Lloyd-Jones, M.G. Larson, E. P. Leip, A. Beiser, R. B. D'Agostino, W. B. Kannel, J. M. Murabito, R.S. Vasan, E.J. Benjamin and D. Levy. Lifetime risk for developing congestive heart failure: the Framingham Heart Study, 2002, doi: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.CIR.0000039105.49749.6F>
- [20] G. Jagadeesh, Gowraganahalli, P. Balakumar and K. Maung-U. Pathophysiology and Pharmacotherapy of Cardiovascular Disease, Springer International Publishing Switzerland, 2015, ISBN 978-3-319-15960-7 doi: 10.1007/978-3-319-15961-4.
- [21] M .Wallner, D.M Eaton, D. von Lewinski and H. Sourij. Revisiting the Diabetes-Heart Failure Connection. Current Diabetes Reports 18, 134, 2018, doi:10.1007/s11892-018-1116-z
- [22] W. B. Kannel, M. Hjortland and W. P. Castelli. Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham study, Elsevier Inc, 1974, doi: [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(74\)90089-7](https://doi.org/10.1016/0002-9149(74)90089-7)
- [23] C. D. Kemp and J. V. Conte. The pathophysiology of heart failure. Cardiovascular Pathology, Volume 1 Issue 5, Elsevier, Pages 365-371, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carpath.2011.11.007>
- [24] M. A. Papadakis, S. J. McPhee and M. W. Rabow. Current medical diagnosis & treatment 2019, McGraw-Hill Education, 2019. Pages 414-416, ISBN-13: 978-1260117431, ISBN-10: 126011743X.
- [25] Wikipedia, Electrocardiography, accessed 10 November 2021, <https://en.wikipedia.org/wiki/Electrocardiography>
- [26] C. Taylor and R. Hobbs. Diagnosing Heart Failure: Experience and 'Best Pathways', European Cardiology 2010, doi: <https://doi.org/10.15420/ecr.2010.6.3.10>

- [27] M. C. Petrie and J. J. V. McMurray. (2003), It cannot be cardiac failure because the heart is not enlarged on the chest X-ray. *European Journal of Heart Failure*, doi: [https://doi.org/10.1016/S1388-9842\(02\)00239-8](https://doi.org/10.1016/S1388-9842(02)00239-8)
- [28] E. A. Ashley EA and J. Niebauer. *Cardiology Explained*. London: Remedica; 2004. PMID: 20821845, ISSN: 1 472-4138, ISBN: 1 901346 22 6 –22
- [29] R. Huss. *Biomarkers, Translational Regenerative Medicine*, Academic Press, 2015, Chapter 19, Pages 235-241, ISBN 9780124103962, doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-410396-2.00019-0>
- [30] K. A. Porter. Effect of homologous bone marrow injections in x-irradiated rabbits. *British Journal of Experimental Pathology*, 1957.
- [31] FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US), 2016, Co-published by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD), doi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/>
- [32] R. M. Califf. Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine*, 2018, doi: <https://doi.org/10.1177/1535370217750088>
- [33] S. K. Nadar and M. M. Shaikh. Biomarkers in Routine Heart Failure Clinical Care. *Card Fail Rev*, 2019, doi: <https://doi.org/10.15420/cfr.2018.27.2>
- [34] L. R. Potter, A. R. Yoder, D. R. Flora, L. K. Antos and D. M. Dickey. (2009) Natriuretic Peptides: Their Structures, Receptors, Physiologic Functions and Therapeutic Applications. In: Schmidt H.H.H.W., Hofmann F., Stasch JP. (eds) *cGMP: Generators, Effectors and Therapeutic Implications*. Handbook of Experimental Pharmacology, vol 191. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-68964-5\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-540-68964-5_15)
- [35] E. Κουλουρίδης και Ι. Κουλουρίδης. Νατριουρητικά Πεπτίδια: ο συνδετικός κρίκος της καρδιακής με τη νεφρική και εντερική λειτουργία, *Ελληνική Νεφρολογία*, 2011, [https://www.ene.gr/eneojs\\_new/index.php/en/article/view/163/165](https://www.ene.gr/eneojs_new/index.php/en/article/view/163/165)
- [36] L. B. Daniels and A. S. Maisel, Natriuretic Peptides, *Journal of the American College of Cardiology*, Volume 50, Issue 25, 2007, Pages 2357-2368, ISSN 0735-1097, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.09.021>



- [37] V. B. Patel and V. R. Preedy, Biomarkers in Cardiovascular Disease, Springer Science+Business Media Dordrecht, 2016, ISBN : 978-94-007-7677-7
- [38] D. Tousoulis and C. Stefanadis. Biomarkers in Cardiovascular Diseases, Taylor & Francis Group, LLC, 2014, ISBN 9780367379704
- [39] S. K. Nadar and M. M. Shaikh. Biomarkers in Routine Heart Failure Clinical Care, Card Fail Rev, 2019 doi: <https://doi.org/10.15420/cfr.2018.27.2>
- [40] P. Porapakham, P. Porapakham, H. Zimmet, B. Billah and H. Krum, B-type natriuretic peptide-guided heart failure therapy: A meta-analysis. Arch Intern Med, 2010, doi: 10.1001/archinternmed.2010.35 PMID: 20308637
- [41] J. Fraden, Handbook of Modern Sensors, Physics, Designs, and Applications, Springer Science+Business Media, LLC, 2010, ISBN 978-1-4419-6465-6 doi: <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6466-3>
- [42] F. Banica, Chemical Sensors and Biosensors Fundamentals and Applications, John Wiley & Sons, Ltd, 2012, Print ISBN:9780470710661, doi: 10.1002/9781118354162
- [43] Bioscience Notes, Online biological notes for students, Radioimmunoassay (RIA), accessed 10 November 2021, <<https://www.biosciencenotes.com/radioimmunoassay-ria/>>
- [44] M. Mazher-Iqbal and M. P. Y. Desmulliez, Lab-on-a-chip based immunosensor principles and technologies for the detection of cardiac biomarkers: a review, Royal Society of Chemistry, 2010, doi: <https://doi.org/10.1039/C0LC00204F>
- [45] Abcam, ELISA principles and types, accessed 10 November 2021, <<https://www.abcam.com/kits/elisa-principle>>
- [46] Wikipedia, ELISA, accessed 10 November 2021, <<https://en.wikipedia.org/wiki/ELISA>>
- [47] J. Zhao, D. Liang, S. Gao, X. Hu, K. Koh, Hongxia Chen, Analyte-resolved magnetoplasmonic nanocomposite to enhance SPR signals and dual recognition strategy for detection of BNP in serum samples, Biosensors and Bioelectronics, Volume 141, 2019, 111440, ISSN 0956-5663, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111440>

- [48] C. H. Chu, I. Sarangadharan and A. Regmi et al. Beyond the Debye length in high ionic strength solution: direct protein detection with field-effect transistors (FETs) in human serum. *Sci Rep*, 2017, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05426-6>
- [49] I. Sarangadharan, S. L. Wang, T. Y. Tai, A. K. Pulikkathodi, C. P. Hsu, H. H. K. Chiang, L. Y. M. Liu, Y. L. Wang. Risk stratification of heart failure from one drop of blood using hand-held biosensor for BNP detection, *Biosensors and Bioelectronics*, Volume 107, 2018, Pages 259-265, ISSN 0956-5663, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.02.036>
- [50] O. Ceylan, G. K. Mishra, M. Yazici, A. Qureshi, J. H. Niazi and Y. Gurbuz. A Hand-Held Point-of-Care Biosensor Device for Detection of Multiple Cancer and Cardiac Disease Biomarkers Using Interdigitated Capacitive Arrays. *IEEE Trans Biomed Circuits Syst.* 2018 Dec;12(6):1440-1449. doi: 10.1109/TBCAS.2018.2870297.
- [51] C. Tucker. Microelectromechanical Systems University of Victoria Dept. of Mechanical Engineering Lecture 5: Electrostatic Sensors and Actuators 1 Overview Introduction to Electrostatics Overview of Electrostatic Actuators and Sensors Parallel Plate Capacitors Electrostatic Interdigitated Finger Capacitors (Comb-Drives) 2, Pages 24-25, accessed 10 November 2021, <<https://docplayer.net/78874026-Lecture-5-electrostatic-sensors-and-actuators.html>>
- [52] N. S. Mazlan, M. M. Ramli, M. M. A. B. Abdullah, D. S. C. Halin, S. S. M. Isa, L. F. A. Talip, N. S. Daniah, and S. A. Z. Murad. Interdigitated electrodes as impedance and capacitance biosensors: A review, *AIP Conference Proceedings*, 2017, doi: <https://doi.org/10.1063/1.5002470>
- [53] B. G. Sheeparamatti, P. D. Hanasi, V. Aibbigeri and N. Meti. N. Study of Capacitance in Electrostatic Comb-Drive Actuators, *COMSOL Proceedings*, 2015, doi: [https://www.comsol.kr/paper/download/295221/hanasi\\_paper.pdf](https://www.comsol.kr/paper/download/295221/hanasi_paper.pdf)
- [54] B. Mattiasson and M. Hedström, Capacitive biosensors for ultra-sensitive assays, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Volume 79, 2016, Pages 233-238, ISSN 0165-9936, doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.10.016>
- [55] Wikipedia, Lift-off (microtechnology), accessed 10 November 2021, [https://en.wikipedia.org/wiki/Lift-off\\_\(microtechnology\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Lift-off_(microtechnology))

[56] M. G. Sande, J. L. Rodrigues, D. Ferreira, C. J. Silva and L. R. Rodrigues. Novel Biorecognition Elements against Pathogens in the Design of State-of-the-Art Diagnostics, Biosensors, 2021, doi: <https://doi.org/10.3390/bios11110418>