

ARTÍCULO - Tesis Premiadas Convocatoria de Premios RADE 2024

Bioplataformas electroquímicas: nuevas herramientas de diagnóstico rápido y fiable para una sanidad descentralizada

Electrochemical bioplatforms: new rapid and reliable diagnostics tools for decentralized healthcare

Alejandro Valverde*, Susana Campuzano, Paloma Yáñez-Sedeño y José M. Pingarrón
Dpto. de Química Analítica, Facultad de CC. Químicas, Universidad Complutense de Madrid
alejaval@ucm.es; alejandro.valverdedelafuente@uantwerpen.be

RESUMEN

Actualmente, las pruebas diagnósticas permiten detectar enfermedades en etapas tempranas para aplicar tratamientos óptimos, mejorando la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes. Sin embargo, su elevado coste, su naturaleza invasiva, su aplicabilidad centralizada y la complejidad en el análisis de muestras obstaculizan la evolución del diagnóstico clínico hacia una medicina personalizada, descentralizada y accesible.

La sociedad reclama una atención más rápida y de mayor calidad adaptada a las necesidades individuales. Una de las mayores demandas clínicas reside en la posibilidad de realizar diagnósticos rápidos y mínimamente invasivos a gran escala gestionados por personal no especializado. La descentralización del sistema de salud hacia laboratorios clínicos, centros de atención primaria o incluso el hogar del paciente resulta crucial para hacer frente a emergencias sanitarias inesperadas, como la pandemia de COVID-19, y promover la medicina personalizada, con potencial para aumentar la probabilidad de curación del paciente y reducir los costes de tratamiento.

La tecnología de biosensores electroquímicos emerge como una alternativa eficaz a las metodologías clínicas convencionales. Esta publicación destaca el diseño y desarrollo de tres bioplataformas electroquímicas innovadoras para el diagnóstico de enfermedades prevalentes como el cáncer o los trastornos neurodegenerativos a través de la determinación de biomarcadores candidato y/o de la identificación de otros no descritos previamente. Estas bioplataformas utilizan protocolos sencillos, descentralizados y de bajo coste, reducidos tiempos de ensayo y pequeñas cantidades de muestra, allanando el camino hacia la cada vez más ansiada medicina personalizada.

PALABRAS CLAVE: Bioplataformas electroquímicas, diagnóstico descentralizado, bajo coste, muestras clínicas, cáncer, trastornos neurodegenerativos.

ABSTRACT

Currently, diagnostic tests make it possible to detect diseases in early stages to apply optimal treatments, thus improving patient survival and quality of life of patients. However, their high cost, invasive nature, centralized applicability and the complexity in sample analysis hinder the evolution of clinical diagnosis towards personalized, decentralized and accessible medicine.

Society pursues faster and higher quality care adapted to individual needs. One of the greatest clinical demands lies in the possibility of carrying out rapid and minimally invasive diagnoses on a large scale, managed by non-specialized personnel. The decentralization the health system to clinical laboratories, primary care centers or even the patient's home is crucial to confront unexpected health emergencies, such as the COVID-19 pandemic, and promote personalized medicine, which the potential to increase the probability of patient healing and reduce treatment costs. Electrochemical biosensor technology emerges as an effective alternative to conventional clinical methodologies. This publication highlights the design and development of three innovative electrochemical bioplatforms for the diagnosis of prevalent diseases such as cancer or neurodegenerative disorders through the determination of candidate biomarkers and/or the identification of others not previously described. These bioplatforms use simple, decentralized and low-cost protocols, reduced testing times and small sample quantities, paving the way towards the increasingly desired personalized medicine.

KEYWORDS: Electrochemical bioplatforms, decentralized diagnosis, low cost, clinical samples, cancer, neurodegenerative disorders.

* El autor fue galardonado con el Premio Real Academia de Doctores de España – Ciencias Experimentales en la Convocatoria de Premios RADE 2023 a la mejor tesis doctoral por su tesis *Herramientas de diagnóstico rápido basadas en el empleo de plataformas bioelectroanalíticas aplicables a entornos de bajos recursos*.

Los resultados demoledores de las enfermedades altamente prevalentes como el cáncer o los trastornos neurodegenerativos se atribuyen al diagnóstico tardío y a la baja eficiencia de los tratamientos en estadios avanzados. A pesar de los notables avances en el conocimiento de estas enfermedades y las mejoras continuas en las estrategias de detección, las metodologías actualmente disponibles para el diagnóstico clínico presentan ciertas desventajas, tales como costes elevados, instrumentación compleja y necesidad de personal cualificado, limitando su uso a laboratorios centralizados. Como consecuencia, ha surgido un interés creciente en el desarrollo de métodos alternativos para un diagnóstico precoz y fiable, con el objetivo de mejorar la supervivencia de los pacientes, su calidad de vida y garantizar el mejor uso de los limitados recursos sociales.

La pandemia de COVID-19 ha evidenciado la necesidad de descentralizar el Sistema Nacional de Salud. Desde 2020, hemos sido testigos de la escasez de personal y equipos médicos, los largos tiempos de espera para la realización de pruebas diagnósticas y la saturación de los centros de salud. Por ello, la sociedad demanda dispositivos sencillos y económicos que ofrezcan diagnósticos rápidos, fiables y mínimamente invasivos para ser implementados de manera descentralizada incluso en entornos con recursos limitados. Esto abriría el camino para un importante avance en la investigación y aplicación de la medicina personalizada, sostenible e igualitaria, un área en la que la tecnología de biosensores presenta un enorme potencial.

Según la definición de la IUPAC, un biosensor es un dispositivo integrado autónomo capaz de proporcionar información analítica cuantitativa o semicuantitativa específica utilizando un elemento de reconocimiento biológico (receptor bioquímico) que se mantiene en contacto espacial directo con un elemento de transducción (1). Actualmente, este término goza de gran popularidad en el área de la Química Analítica para la puesta a punto de dispositivos de análisis simples, donde la transducción electroquímica ha sido – y continúa siendo – la elección principal en el diseño y la fabricación de biosensores debido a su simplicidad experimental, rápida respuesta, metodología económica, alta sensibilidad y excelente compatibilidad con la instrumentación miniaturizada y descentralizada (2). Estas características han propiciado una evolución exponencial de la tecnología de biosensores electroquímicos, desde los primeros electrodos de oxígeno de Clark durante la década de 1950 hasta los modernos glucómetros implementados incluso en formatos *wearable* de tipo micro-aguja para la monitorización de pacientes diabéticos (3-5).

La amperometría es la técnica de detección más utilizada en el área de los biosensores electroquímicos y su funcionamiento se basa en la medida de corriente eléctrica generada tras la oxidación o reducción electroquímica de especies electroactivas cuando se aplica un único valor de potencial en un sistema de tres electrodos (6). En las últimas décadas, la miniaturización de los componentes aplicados a la electroquímica y la evolución de las técnicas de fabricación han dado lugar a los electrodos serigrafiados o *screen-printed electrodes* (SPEs).

Estos dispositivos desechables permiten trabajar con pequeños volúmenes y pueden fabricarse en serie con una metodología sencilla y económica utilizando una amplia gama de materiales y geometrías en formatos de detección individual o multiplexado (7 y 8).

Los SPEs ofrecen una gran versatilidad para modificar la superficie del electrodo de trabajo y mejorar las aplicaciones analíticas de dichas bioplataformas electroquímicas. Entre ellas, se incluye el uso de nanomateriales para la amplificación de la señal electroquímica, gracias a las excelentes propiedades conductoras, biocompatibilidad y facilidad de biofuncionalización que exhiben mayoritariamente (9). Del mismo modo, la superficie de trabajo puede modificarse mediante técnicas electroquímicas como el electroinjerto o *electrografting* de sales de diazonio para la inmovilización covalente de biomoléculas a través de un enlace de tipo amida (10). Otros enfoques aprovechan el empleo de micropartículas magnéticas (MBs, por sus siglas en inglés) disponibles comercialmente con una amplia gama de grupos funcionales y utilizadas como soportes sólidos para la construcción del bioensayo con el fin de mejorar la sensibilidad, la cinética de reacción y minimizar el efecto matriz en el análisis de muestras a través de protocolos muy sencillos (11 y 12).

En resumen, las carencias de las metodologías clínicas convencionales en términos de coste, carácter invasivo, tiempo de análisis y protocolos complejos limitados a entornos centralizados, hacen más importante que nunca redirigir la investigación hacia una medicina personalizada que nos garantice una mayor calidad de vida, un uso más racional de los recursos y el derecho a ser partícipes de la gestión de nuestra salud. En este contexto, la identificación de nuevos biomarcadores y el desarrollo de tecnologías disruptivas que permitan su multideterminación de manera sencilla, rápida, económica y descentralizada, están llamados a jugar un papel decisivo en esta transición.

A continuación, se detalla el diseño y puesta a punto de tres bioplataformas electroquímicas de vanguardia aplicables en entornos descentralizados tanto para la identificación como para la determinación individual o múltiple de biomarcadores de naturaleza proteica y de relevancia emergente en la medicina personalizada de cáncer y trastornos neurodegenerativos (13).

1. BIOPLATAFORMA ELECTROQUÍMICA PARA DETECCIÓN DE CÁNCER COLORRECTAL

El cáncer colorrectal (CRC) es la segunda causa principal de muerte por cáncer en todo el mundo y presenta una elevada incidencia tanto en hombres como en mujeres (14). Aunque se prevé un aumento de su prevalencia en los próximos años, la detección precoz y una gestión clínica adecuada disminuirán significativamente el número de fallecimientos por CRC. De hecho, la tasa de supervivencia de los pacientes a cinco años puede alcanzar valores del 90 % con un diagnóstico precoz acompañado de un tratamiento efectivo (15).

La colonoscopia y la tomografía computarizada son las técnicas más utilizadas en el ámbito clínico para la detección del CRC, aunque muestran ciertas desventajas como su naturaleza invasiva, coste y necesidad de aplicación en un entorno hospitalario (16). Actualmente, las pruebas de diagnóstico están evolucionando hacia estrategias menos invasivas como la determinación de biomarcadores tumorales mediante ensayos ELISA o de PCR cuantitativa, aunque su coste, tiempo de ensayo e instrumentación centralizada sigue limitando su aplicabilidad tanto en el punto de atención como en entornos de bajos recursos.

Por todo ello, y dado el interés en mejorar la especificidad y sensibilidad del diagnóstico del CRC, se desarrolló una inmunoplataforma electroquímica dual para la determinación simultánea del receptor alfa-2 de la interleucina-13 (IL-13R α 2) y la cadherina-17 (CDH-17), dos proteínas candidatas asociadas con estadios avanzados de CRC y sobreexpresadas en células altamente metastásicas de colon (17).

La inmunoplataforma estaba integrada en la superficie de trabajo de un SPE dual de carbono (SPdCE) con dos electrodos de trabajo (WE, por sus siglas en inglés) y se basaba en configuraciones de tipo sándwich que involucran el empleo de dos parejas de anticuerpos selectivos para cada uno de los biomarcadores diana. Como se observa en la Figura 1a, el anticuerpo de captura se inmovilizaba covalentemente sobre el electrodo de trabajo, previamente funcionalizado con grupos carboxílicos mediante *electrografting* con ácido *p*-aminobenzoico (*p*-ABA). Tras una etapa de bloqueo, el biomarcador diana era capturado de forma selectiva y eficiente sobre las immunosuperficies y, finalmente, se marcaba empleando nanomateriales híbridos de puntos cuánticos de grafeno (GQDs, por sus siglas en inglés) y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs, por sus siglas en inglés) que se utilizaron como transportadores de múltiples moléculas de anticuerpo de detección y de la enzima peroxidasa (HRP) con fines de amplificación de la respuesta electroquímica. Por su parte, la detección electroquímica se llevaba a cabo por amperometría monitorizando la reducción enzimática del peróxido de hidrógeno mediada por la hidroquinona, obteniendo una variación en la corriente catódica que, por los formatos de ensayo empleados, resultaba directamente proporcional a la concentración del biomarcador diana en la muestra analizada.

El nanomaterial híbrido (GQDs/MWCNTs) se caracterizó mediante diferentes técnicas espectroscópicas, electroquímicas y microscópicas, demostrando sus excelentes propiedades para el desarrollo de biosensores electroquímicos (18). Tras decorarlo con múltiples moléculas de anticuerpos de detección y HRP, se optimizaron todas las variables experimentales clave que afectaban a la preparación de la inmunoplataforma dual y se evaluaron sus características analíticas. Se observaron amplios intervalos lineales, gran reproducibilidad del proceso de fabricación y detección amperométrica, buena estabilidad del nanomaterial funcionalizado (sin pérdida significativa de señal durante un mes) y

límites de detección compatibles con la sensibilidad requerida en clínica para estos biomarcadores de CRC (17).

Finalmente, la inmunoplataforma dual desarrollada se enfrentó al análisis de distintas muestras clínicas: lisados de pares isogénicos de células de CRC con diferente potencial metastásico y extractos de tejidos parafinados tumorales y no tumorales de pacientes con CRC en distintos estadios de la enfermedad (Figura 1b). Los resultados obtenidos demostraron una mayor expresión de IL-13Ra2 y CDH-17 en las células de CRC metastásicas y en los extractos de tejido tumoral de pacientes con CRC. Estos resultados fueron concordantes con los semicuantitativos proporcionados por la metodología *Dot-Blot*, una técnica frecuentemente utilizada en laboratorios clínicos, aunque la inmunoplataforma dual proporcionaba resultados cuantitativos en menos de dos horas y utilizando una cantidad de muestra por determinación entre 10 y 20 veces inferior (13, 17, 18). Además, con el fin de poner al límite el potencial de esta inmunoplataforma, también se compararon las respuestas amperométricas proporcionadas en el análisis de células enteras, obteniéndose valores de intensidad significativamente superiores para ambos biomarcadores en las células metastásicas en comparación con las células no-metastásicas (Figura 1c).

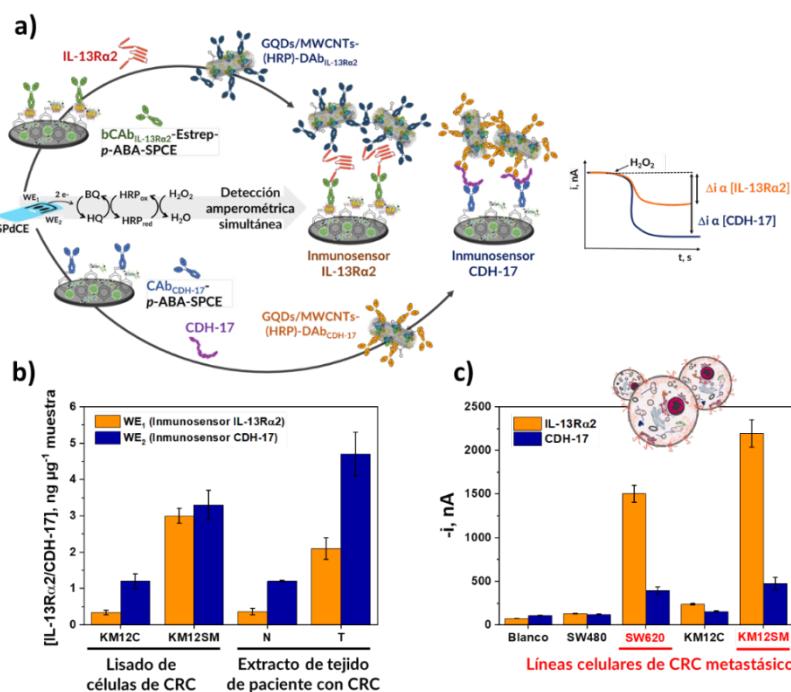


Figura 1. a) Esquema de las etapas de preparación y medida electroquímica de la inmunoplataforma dual para la determinación simultánea de IL-13Ra2 y CDH-17. b) Determinación de IL-13Ra2 y CDH-17 con la inmunoplataforma dual en lisados de células de CRC con distintivo potencial metastásico y en extractos representativos de tejidos pareados (N: no tumoral; T: tumoral) de un paciente con CRC en estadio III. c) Comparación de las respuestas amperométricas obtenidas con la inmunoplataforma dual para la determinación simultánea de IL-13Ra2 y CDH-17 en ausencia (blanco) y en presencia de células no metastásicas (SW480 y KM12C) y con elevado potencial metastásico (SW620 y KM12SM) procedentes de CRC. Figuras adaptadas de (13).

Todos estos resultados pusieron de manifiesto la utilidad de las inmunoplataformas integradas para identificar las capacidades metastásicas en lisados celulares, extractos de tejidos o incluso en células enteras; ofreciendo además los primeros resultados cuantitativos para la expresión de los biomarcadores IL-13R α 2 y CDH-17 de manera simultánea en este tipo de muestras de elevada relevancia clínica en el diagnóstico de CRC.

2. BIOPLATAFORMA ELECTROQUÍMICA PARA DETECCIÓN DE SUBTIPOS AGRESIVOS DE CÁNCER DE MAMA

El cáncer de mama (BC) es la neoplasia más frecuente en mujeres y una de las principales causas de muerte de la población femenina (19). Afortunadamente, las mejoras en el diagnóstico precoz y en la eficacia de las terapias en este tipo de cáncer han permitido disminuir en un 40 % la cifra de fallecimientos desde la década de 1980 (20).

El diagnóstico general del BC se basa en una triple prueba que comprende un examen clínico, pruebas por imágenes y biopsia con aguja para clasificar las células cancerígenas en función de la expresión de determinados receptores hormonales reconocidos clínicamente como factores predictivos indispensables para la toma de decisiones terapéuticas en BC (21). Se analiza, generalmente mediante ensayos inmunohistoquímicos o de hibridación *in situ*, si las células del tumor presentan receptores para estrógenos, progesterona y el factor de crecimiento epidérmico humano (HER2), ya que se sabe que estas proteínas participan en el crecimiento tumoral y en su agresividad promoviendo la metástasis, particularmente HER2.

Por este motivo, y con el objetivo de contribuir tanto al diagnóstico fiable y mínimamente invasivo como a la discriminación entre subtipos de esta neoplasia, se desarrolló una inmunoplataforma electroquímica dual asistida por el empleo de MBs modificadas con neutravidina (Neu-MBs) para la determinación del ligando de receptor activador para el factor nuclear kappa beta (RANKL) y el factor de necrosis tumoral (TNF), dos biomarcadores proteicos cuya sobreexpresión se asocia con fases avanzadas de eventos cancerígenos, incluido el BC (22).

La Figura 2a muestra de manera esquemática la estrategia basada en un formato de inmunoensayo de tipo sándwich con dos anticuerpos selectivos a los biomarcadores y un marcaje enzimático con HRP, pero en este caso implementado sobre estos microsoportes magnéticos. Las MBs biofuncionalizadas se capturaron sobre la superficie de SPCEs para realizar la correspondiente transducción amperométrica con el sistema peróxido de hidrógeno/hidroquinona (13). En las condiciones experimentales exhaustivamente optimizadas, la inmunoplataforma dual ofreció un amplio intervalo lineal, sensibilidades y selectividades compatibles con su aplicación en clínica y gran robustez en los procesos de preparación de los bioconjungados magnéticos y de transducción amperométrica. Además, se confirmó la buena estabilidad de los inmunoconjungados, que podían utilizarse sin pérdida significativa de sensibilidad durante los 20 días posteriores a su preparación.

Destacan sus bajos límites de detección, compatibles con el análisis de muestras de suero (con valores cercanos a 10 pg mL^{-1} para ambos biomarcadores en individuos sanos) en tan solo 90 minutos de ensayo, características que las hacen apropiadas para contribuir al diagnóstico rápido y mínimamente invasivo del BC. Por ello, estas inmunoplataformas se enfrentaron al análisis de muestras de suero de individuos sanos y de pacientes diagnosticados con BC con subtipos HER2 negativo y HER2 positivo, proporcionando una clara sobreexpresión de ambos biomarcadores en las muestras tumorales y mostrando una excelente concordancia con los obtenidos mediante la metodología ELISA comercial (22).

Los resultados mostrados en la Figura 2b evidenciaron la utilidad de la inmunoplataforma para discriminar claramente entre individuos sanos y pacientes diagnosticados con BC a través de la determinación de ambos biomarcadores. Además, atendiendo a la determinación de RANKL, la inmunoplataforma también fue capaz de discriminar entre pacientes HER2 negativos y HER2 positivos. Estos resultados pueden encontrar justificación en el hecho de que RANKL es un regulador crítico en el metabolismo óseo y el carcinoma de BC evoluciona frecuentemente a metástasis en huesos, por lo que una sobreexpresión de HER2 provocaría una mayor agresividad del tumor para metastatizar en el hueso y desregular los niveles de RANKL (13).

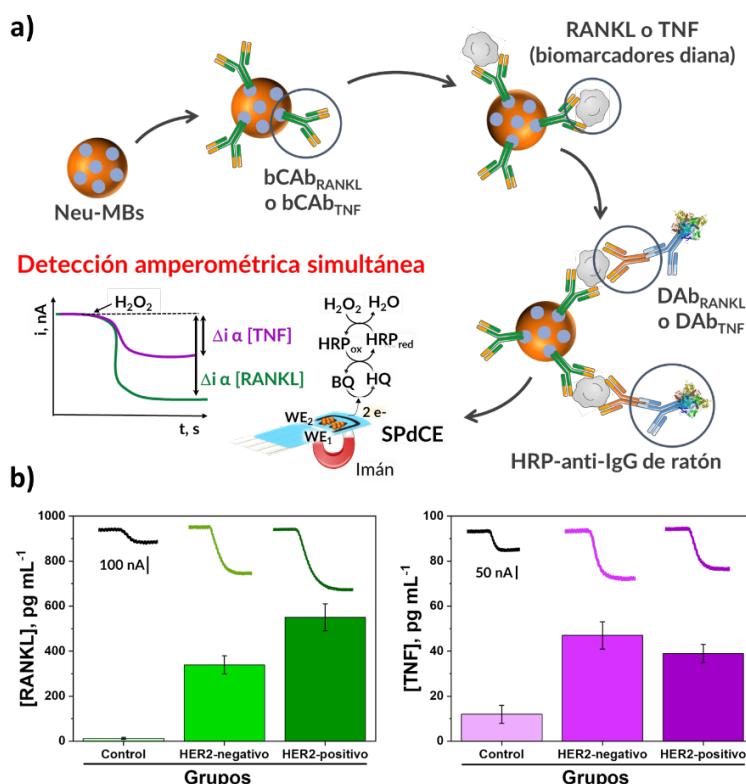


Figura 2. a) Representación esquemática de las etapas de preparación de la inmunoplataforma electroquímica dual asistida por el empleo de Neu-MBs para la determinación simultánea de RANKL y TNF. b) Concentraciones séricas de RANKL (verde) y TNF (morado) junto con las respuestas amperométricas proporcionadas por la inmunoplataforma electroquímica dual en el análisis de grupos de individuos sanos (control) y de pacientes diagnosticados con BC con subtipo HER2-negativo y HER2 positivo. Figuras adaptadas de (13).

Todos estos resultados, de carácter pionero, ponen de manifiesto tanto la relevancia clínica de RANKL y TNF como el potencial de las inmunoplataformas electroquímicas para la detección y clasificación fiable del BC utilizando una metodología sencilla, mínimamente invasiva y de aplicabilidad compatible en el punto de atención.

3. BIOPLATAFORMA ELECTROQUÍMICA PARA DETECCIÓN PRECOZ DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer es el trastorno neurodegenerativo más común en todo el mundo y la principal causa de demencia en ancianos. Afecta a 45 millones de personas y se prevé que su incidencia se triplique para 2050 debido al envejecimiento progresivo de la población (23). Aunque es una de las enfermedades más desoladoras que existen, la enfermedad de Alzheimer progresa muy lentamente y presenta unas largas etapas prodrómicas y preclínicas (cercañas a los 20 años), es decir, comienza muchos años antes de que aparezcan los primeros síntomas (24).

Desafortunadamente, las técnicas convencionales de detección, como la imagen por resonancia magnética (MRI, por sus siglas en inglés) o la tomografía por emisión de positrones (PET), presentan limitaciones en términos de coste, análisis invasivo e instrumentación de carácter centralizado. Además, son de diagnóstico tardío y únicamente son capaces de detectar la enfermedad cuando ya se encuentra en fases muy avanzadas (25 y 26). Por este motivo, el desarrollo de tecnologías disruptivas que permitan la identificación de nuevos biomarcadores, así como la determinación de biomarcadores capaces de contribuir al diagnóstico temprano de la enfermedad de Alzheimer se considera determinante para mejorar la supervivencia y la calidad de vida de estos pacientes.

En este contexto, el Grupo de Electroanálisis y (Bio)sensores Electroquímicos de la Universidad Complutense de Madrid y el Grupo ProteoFun del Instituto de Salud Carlos III desarrollaron una bioplataforma electroquímica multiplexada de vanguardia capaz de contribuir al diagnóstico temprano y mínimamente invasivo de la enfermedad de Alzheimer a través de la detección de autoanticuerpos séricos (biomarcadores ideales para la detección precoz de enfermedades) utilizando como biorreceptores péptidos desplegados en fagos y aberrantes producidos por la tecnología HaloTag e inmovilizados sobre la superficie de MBs (27).

Se identificaron y produjeron seis péptidos HaloTag: cuatro desplegados en fagos mediante la técnica de despliegue en fagos (*Phage-display*) y dos aberrantes de dos proteínas implicadas en la enfermedad de Alzheimer. Para producir estos péptidos, el Grupo ProteoFun utilizó inmunoglobulinas G (IgGs) purificadas de pacientes diagnosticados con la enfermedad de

Alzheimer para enriquecer las bibliotecas de fagos, donde los péptidos que mostraron mayor serorreactividad se clonaron y expresaron en *E. coli* mediante la tecnología HaloTag (24, 28).

Posteriormente, el Grupo de Electroanálisis y (Bio)sensores Electroquímicos integró estos novedosos péptidos HaloTag en una bioplataforma electroquímica que permitía detectar los autoanticuerpos séricos específicos a estos péptidos. Se utilizaron MBs comerciales capaces de inmovilizar estos péptidos a través de su tag Halo para capturar selectivamente las inmunoglobulinas específicas (es decir, los autoanticuerpos séricos) a dichos péptidos. El ensayo se completaba tras la detección de estos autoanticuerpos con anticuerpos secundarios marcados con HRP y realizando la transducción amperométrica en presencia del sistema peróxido de hidrogeno/hidroquinona (Figura 3a).

Tras optimizar de manera exhaustiva las variables experimentales, la bioplataforma se enfrentó a la detección de los autoanticuerpos específicos a los seis péptidos HaloTag en muestras de suero de una cohorte de pacientes que incluía diez sujetos sanos y diez pacientes con la enfermedad de Alzheimer. Como puede observarse en la Figura 3b, los resultados obtenidos demuestran una discriminación estadísticamente significativa entre los sueros de individuos sanos y de pacientes con la enfermedad de Alzheimer para los autoanticuerpos de los seis péptidos HaloTag.

Finalmente, este enfoque innovador se implementó como prueba de concepto en una plataforma óctuple para detectar de manera simultánea los autoanticuerpos séricos frente a los seis péptidos HaloTag con valor diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer, incluyendo además como controles MBs sin modificar con péptido y modificadas con un péptido control en el análisis de una muestra representativa de un individuo sano y de un paciente con la enfermedad de Alzheimer (Figura 3c).

Los resultados obtenidos permitieron la discriminación fiable, mínimamente invasiva y de carácter temprano, dada la naturaleza de los autoanticuerpos, en un único dispositivo y a través de una firma de biomarcadores no descrita previamente, contribuyendo de manera significativa al avance en el diagnóstico precoz y fiable de la enfermedad de Alzheimer (27).

Para concluir, en esta publicación se han presentado, a modo de ejemplo, tres estrategias representativas de vanguardia que actualmente están empujando los límites de la tecnología de biosensores electroquímicos hasta aplicaciones inexploradas, abriendo una línea de trabajo pionera enfocada al desarrollo de nuevos conceptos de biosensorización electroanalítica y permitiendo la implementación de herramientas complementarias de análisis aplicables en entornos descentralizados. Estas estrategias ofrecen una interesante alternativa a las metodologías clínicas convencionales para asegurar una medicina personalizada al alcance de todos.

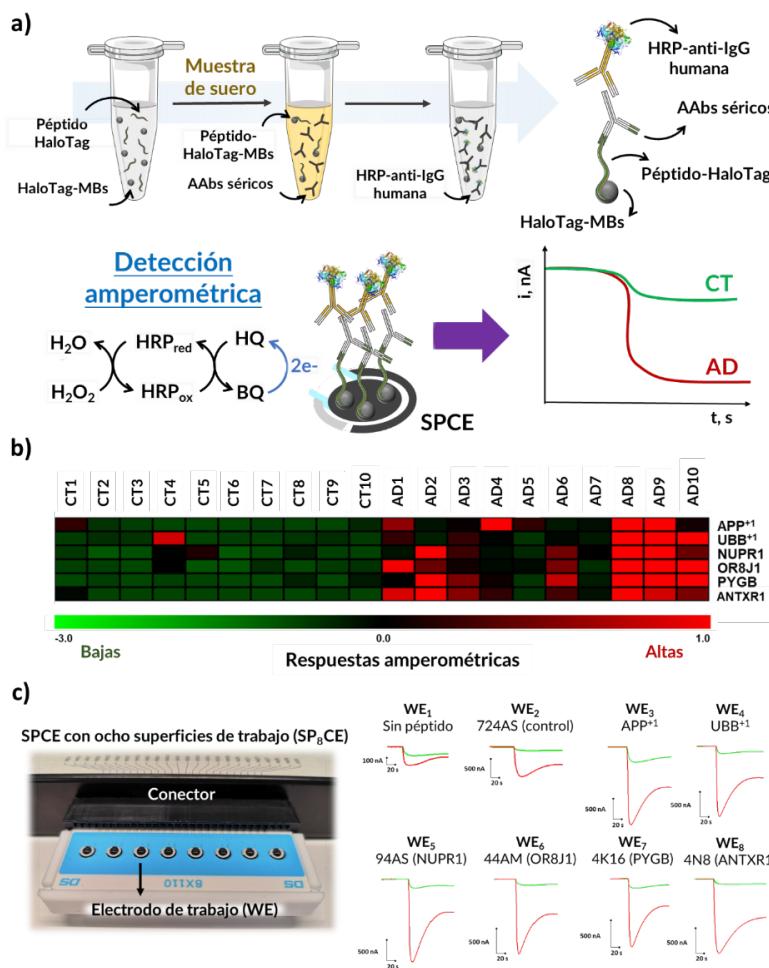


Figura 3. a) Diagrama esquemático empleado para la preparación y la transducción amperométrica con la bioplataforma desarrollada para la determinación de autoanticuerpos (AAbs) frente a péptidos HaloTag desplegados en fagos y/o aberrantes para la discriminación de pacientes diagnosticados con la enfermedad de Alzheimer (AD) e individuos sanos (CT). b) Visualización de la serorreactividad de cada péptido uno de los seis HaloTag frente a las muestras de suero de diez pacientes diagnosticados con AD y diez individuos CT analizados con bajas (verde), intermedias (negro) y altas (rojas) respuestas amperométricas. c) Amperogramas registrados con la bioplataforma multiplexada SP₈CE tras capturar magnéticamente sobre sus superficies de trabajo HaloTag-MBs sin modificar (WE₁) y modificadas con el péptido HaloTag control (WE₂) y con los seis péptidos HaloTag específicos (WE₃-WE₈) incubadas con un individuo CT (líneas verdes) y con un paciente diagnosticado con AD (líneas rojas). Figuras adaptadas de (13).

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la financiación de todos los proyectos implicados (RTI2018-096135-B-I00, CTQ2015-64402-C2-1-R, PI17CIII/00045, P2018/NMT-4349, PI20CIII/00019, PID2019-103899RB-I00), al contrato predoctoral de la Universidad Complutense de Madrid que me permitió realizar mi Tesis Doctoral y a todos los miembros del Grupo de Electroanálisis y (Bio)sensores Electroquímicos de la Universidad Complutense de Madrid (GEBE-UCM) y del Grupo ProteoFun de la Unidad de Proteómica Funcional del Instituto de Salud Carlos III por sus imprescindibles contribuciones a estas investigaciones.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. D. THÉVENOT, K. TOTH, R. DURST, G. WILSON. *Pure and Applied Chemistry*, 71 (1999) 2333-2348.
2. N. RONKAINEN, H. HALSALL, W. HEINEMAN. *Chemical Society Reviews*, 39 (2010) 1747-1763.
3. N. BAKIRHAN, B. TOPAL, G. OZCELIKAY, L. KARADURMUS, S. OZKAN. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 52 (2022) 519-534.
4. S. CAMPUZANO, M. PEDRERO, P. YÁÑEZ-SEDEÑO, J. M. PINGARRÓN. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 345 (2021) 130349.
5. T. SAHA, R. DEL CAÑO, K. MAHATO, E. DE LA PAZ, C. CHEN, S. DING, L. YIN, J. WANG. *Chemical Reviews*, 123 (2023) 7854-7889.
6. A. BARD, L. FAULKNER. *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd Edition (2000). ISBN: 978-0-471-04372-0.
7. Z. TALEAT, A. KHOSHROO, M. MAZLOUM-ARDAKANI. *Microchimica Acta*, 181 (2014) 865-891.
8. B. PÉREZ-FERNÁNDEZ, A. COSTA-GARCÍA, A. DE LA ESCOSURA-MUÑIZ. *Biosensors*, 10 (2020) 32.
9. V. NARESH, N. LEE. *Sensors*, 21 (2021) 1-35.
10. M. DELAMAR, R. HITMI, J. PINSON, J. SAVÉANT. *Journal of the American Chemical Society*, 114 (1992) 5883-5884.
11. F. RICCI, G. ADORNETTO, G. PALLESCHI. *Electrochimica Acta*, 84 (2012) 74-83.
12. P. YÁÑEZ-SEDEÑO, S. CAMPUZANO, J. M. PINGARRÓN. *Sensors*, 16 (2016) 1585.
13. A. VALVERDE (2023). *Herramientas de diagnóstico rápido basadas en el empleo de plataformas bioelectroanalíticas aplicables a entornos de bajos recursos*. Universidad Complutense de Madrid.
14. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER – World Health Organization 2022. Colorectal cancer, WHO <https://www.iarc.who.int/cancer-type/colorectal-cancer>
15. M. ARNOLD, M. SIERRA, M. LAVERSANNE, I. SOERJOMATARAM, A. JEMAL, F. BRAY. *Gut*, 66 (2017) 683-691.
16. J. QUINCHIA, D. ECHEVERRI, A. CRUZ-PACHECO, M. MALDONADO, J. OROZCO. *Micromachines*, 11 (2020) 411.
17. V. SERAFÍN, A. VALVERDE, M. GARRANZO-ASENSIO, R. BARDERAS, S. CAMPUZANO, P. YÁÑEZ-SEDEÑO, J. M. PINGARRÓN. *Microchimica Acta*, 186 (2019) 411.

18. V. SERAFÍN, A. VALVERDE, G. MARTÍNEZ-GARCÍA, E. MARTÍNEZ-PERIÑAN, F. COMBA, M. GARRANZO-ASENSIO, R. BARDERAS, P. YÁÑEZ-SEDEÑO, S. CAMPUZANO, J. M. PINGARRÓN. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 284 (2019) 711-722.
19. WORLD HEALTH ORGANIZATION 2022. Breast cancer, WHO <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
20. O. GINSBURG, C. YIP, A. BROOKS, A. CABANES, M. CALEFFI, J. YATACO, B. GYAWALI, V. MCCORMACK, M. DE ANDERSON, R. MEHROTRA, A. MOHAR, R. MURILLO, L. PACE, E. PASKETT, A. ROMANOFF, A. ROSITCH, J. SCHEEL, M. SCHNEIDMAN, K. UNGER-SALDAÑA, V. VANDERPUYE, T. WU, S. YUMA, A. DVALADZE, C. DUGGAN, B. ANDERSON. *Cancer*, 126 (2020) 2379-2393.
21. N. HARBECK, F. PENAUT-LLORCA, J. CORTES, M. GNANT, N. HOUSSAMI, P. POORTMANS, K. RUDDY, J. TSANG, F. CARDOSO. *Nature Reviews Disease Primers*, 5 (2019) 66.
22. A. VALVERDE, V. SERAFÍN, J. GAROZ, A. MONTERO-CALLE, A. GONZÁLEZ-CORTÉS, M. ARENAS, J. CAMPS, R. BARDERAS, P. YÁÑEZ-SEDEÑO, S. CAMPUZANO, J. M. PINGARRÓN. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 314 (2020) 128096.
23. ALZHEIMER'S ASSOCIATION. 2021 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's and Dementia*, 17 (2021) 327-406.
24. P. SAN SEGUNDO-ACOSTA, A. MONTERO-CALLE, M. FUENTES, A. RÁBANO, M. VILLALBA, R. BARDERAS. *Journal of Proteome Research*, 18 (2019) 2940-2953.
25. B. OLSSON, R. LAUTNER, U. ANDREASSON, A. ÖHRFELT, E. PORTELIUS, M. BJERKE, M. HÖLTTÄ, C. ROSÉN, C. OLSSON, G. STROBEL, E. WU, K. DAKIN, M. PETZOLD, K. BLENNOW, H. ZETTERBERG. *The Lancet Neurology*, 15 (2016) 673-684.
26. K. JOHNSON, N. FOX, R. SPERLING, W. KLUNK. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2 (2012) a006213.
27. A. VALVERDE, A. MONTERO-CALLE, B. ARÉVALO, P. SAN SEGUNDO-ACOSTA, V. SERAFÍN, M. ALONSO-NAVARRO, G. SOLÍS-FERNÁNDEZ, J. M. PINGARRÓN, S. CAMPUZANO, R. BARDERAS. *Analysis & Sensing*, 1 (2021) 161-165.
28. A. MONTERO-CALLE, P. SAN SEGUNDO-ACOSTA, M. GARRANZO-ASENSIO, A. RÁBANO, R. BARDERAS. *Molecular Neurobiology*, 57 (2020) 1009-1020.