

Nuestra Facultad

RESÚMENES DE TESIS DOCTORALES

Desarrollo de nuevos sensores fluorescentes con reconocimiento selectivo para la determinación de digoxina y su aplicación a muestras de suero humano

Gema Paniagua González. *Autora*
Dres. J. Senén Durand Alegría y
Pilar Fernández Hernando.

Directores Departamento de Ciencias Analíticas

Fecha de lectura: 2 de julio de 2009

Calificación: Sobresaliente cum laude por unanimidad

La digoxina es un fármaco muy utilizado en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares. Entre sus efectos beneficiosos destaca el aumento de la fuerza de contracción del músculo del corazón, a la vez que disminuye la frecuencia cardiaca. Sin embargo, su toxicidad puede ser grave si se administra fuera del estrecho intervalo terapéutico que presenta (0,5-2,0 mg l⁻¹).

La determinación de digoxina en fluidos biológicos, dentro de sus límites terapéuticos, requiere métodos analíticos rápidos, selectivos y capaces de evitar falsos positivos que pueden producirse debido a las interferencias por parte de algunos compuestos. Los métodos por excelencia para su determinación son los inmunológicos, siendo la tendencia general la comercialización de kits de inmunoensayos para estos compuestos de interés clínico. Sin embargo, la mayoría de este tipo de dispositivos no están pensados para el análisis en continuo; además, se trata de ensayos irreversibles, o en el caso de que operen de forma reversible presentan el problema de la falta de regenerabilidad y reutilización del sensor; en general, su coste es elevado. Todo ello ha conducido al estudio y desarrollo de nuevas metodologías analíticas que deberán ser lo suficientemente sencillas, rápidas y asequibles desde el punto de vista económico para hacer factible la determinación rutinaria de dicho compuesto dentro de su margen terapéutico de aplicación de forma sensible, selectiva y con la mínima manipulación.

El trabajo de investigación realizado en esta Tesis Doctoral supone una contribución a la Química Analítica y Clínica, centrándose en el estudio de nuevas meto-

dologías de desarrollo de sensores químicos para la determinación de los niveles séricos de digoxina, permitiendo el control y mantenimiento de la dosis adecuada. Los sensores desarrollados suponen una alternativa a los métodos existentes, en cuanto a reducción de tiempo de análisis, determinación en continuo, simplicidad de procedimiento, costes, y mayor sensibilidad.

El trabajo llevado a cabo se divide fundamentalmente en cinco partes. La investigación desarrollada se presenta exponiendo una serie de trabajos publicados en revistas científicas indexadas:

1. La primera parte consiste en el desarrollo de un inmunosensor químico fluorescente en flujo basado en el empleo de bio-receptores moleculares (anticuerpos) para la determinación de digoxina en muestras de suero humano. “*Permanently oriented antibody immobilization for digoxin determination with a flow-through fluoroimmunosensor*”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **375**, 1020-1023 (2003). (Fig. 1).

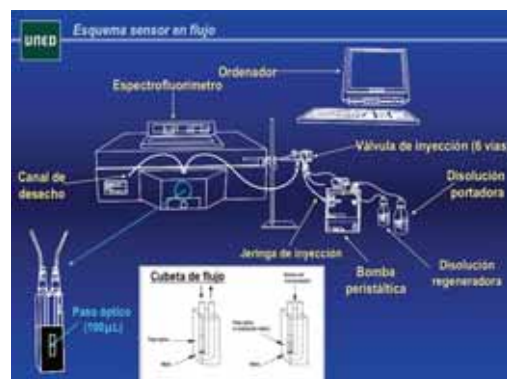


Figura 1.

2. La segunda parte engloba estudios dirigidos a la obtención de un receptor molecular selectivo sintético, mediante la síntesis y evaluación analítica de varios polímeros de impresión molecular (MIPs) para el analito digoxina, con el objeto de ser aplicados en el desarrollo de un sensor polimérico. “*A morphological study of molecularly imprinted polymers using the scanning electron microscope*”. *Analytica Chimica Acta*, **557**, 179-183 (2006). (Fig. 2).
3. A partir del polímero cuyas condiciones se han seleccionado como óptimas en los estudios ante-

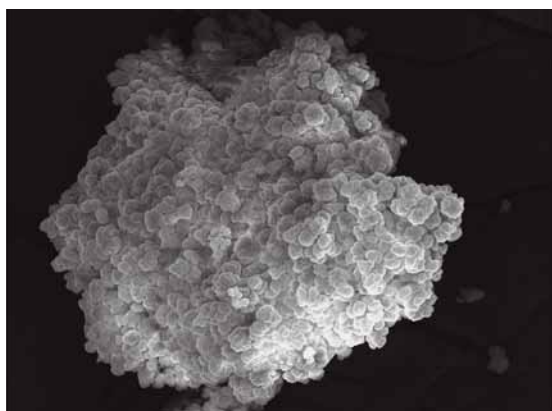


Figura 2.

riores se desarrolló un sensor en flujo. El empleo de este receptor molecular sintético (MIP) permite la monitorización y determinación de digoxina, de forma sensible y selectiva, en muestras séricas de pacientes tratados con dicho compuesto. «*Determination of digoxin in serum samples using a flow-through fluorosensor based on a molecularly imprinted polymer*». *Biosensors & Bioelectronics*, 23, 1754-1758 (2008).

4. Como conclusión a los trabajos anteriores, en lo que podemos decir constituye la cuarta parte del trabajo, se realiza un estudio comparativo entre los dos fluorosensores desarrollados mediante ambos tipos de receptores, donde se analizan y comparan las características analíticas, así como las ventajas y desventajas existentes entre ellos. Estudio de la posibilidad del uso de polímeros de impresión molecular como alternativa a la tradicional utilización de receptores biológicos. «*A MIP-based flow-through fluoroimmunosensor as an alternative to immunosensors for the determination of digoxin in serum samples*». *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394, 963-970 (2009).
5. La última parte de la investigación, recogida en el último artículo publicado, se orienta a la síntesis de una membrana receptora polimérica (cloruro de polivinilo, con el MIP para digoxina seleccionado de trabajos anteriores), con la que se desarrolla un dispositivo sensor que permita su futura aplicación al diseño de un kit o dispositivo diagnóstico para ser utilizado en la determinación de digoxina en el análisis de rutina de laboratorio de forma rápida y sencilla en muestras de suero humano. «*An optical sensor for the determination of digoxin in serum samples based on a molecularly imprinted polymer membrane*». *Analytica Chimica Acta*, 638, 209-212 (2009). (Fig. 3).

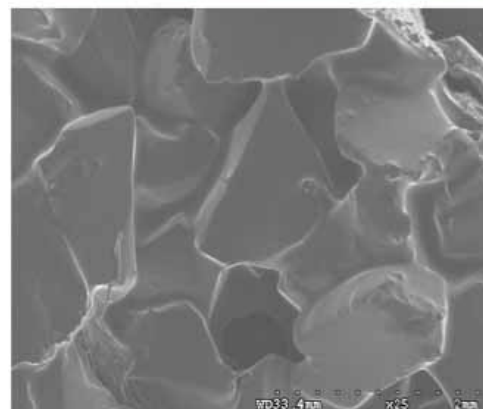


Figura 3.

En las condiciones óptimas de trabajo, los tres sensores desarrollados fueron muy selectivos, comprobándose en cada caso mediante estudios de reactividad cruzada, la no existencia de interferencias por parte de varios compuestos, como digitoxina y otros fármacos de estructura similar a la digoxina que podían interferir en las determinaciones. Además, fueron aplicados con éxito al análisis de muestras de suero humano procedentes de pacientes del Hospital de Puerta de Hierro tratados con este fármaco. En el caso de los sensores poliméricos, bien usando directamente el MIP en partículas ($LDD = 1,7 \cdot 10^{-2} \text{ mg l}^{-1}$), o una conformación de éste en membrana ($LDD = 3,17 \cdot 10^{-2} \text{ mg l}^{-1}$), se alcanzaron límites de detección por debajo del límite inferior de concentración del intervalo terapéutico ($0,5\text{-}2 \text{ mg l}^{-1}$) en el que este analito se suministra.

Los fundamentos y desarrollos derivados de esta Tesis Doctoral pueden servir como base de otras futuras investigaciones y para ampliar el conocimiento científico en este área. Así, podría ser posible la extrapolación de los métodos desarrollados a otros analitos. Además, el MIP desarrollado para digoxina ofrece un gran potencial de aplicación, no solo como fase sensora, sino como fase sólida para la extracción y limpieza de este analito en muestras orgánicas, en las que el interés del análisis vaya encaminado a la determinación de otro/s analito/s.