

UNIVERSITETI I PRISHTINËS “HASAN PRISHTINA”

FSHMN – Departamenti i KIMISË



Punimi i diplomës MASTER

FABRIKIMI I NJË IMUNOSENZORI KAPACITATIV PËR
PËRCAKTIMIN E METOTREKSATIT BAZUAR NË
DEPOZITIMIN SHITESË-PËR-SHITESË TË NANOTUBAVE
TË KARBONIT TË DOPUARA ME FILMA TË HOLLË TË
POLIPIRROLIT/POLITIRAMINËS MBI ELEKTRODAT E
PRINTUARA TË ARIT

Kandidatja

BLERINA OSMANAJ
BERISHA

Mentori

Prof. Dr. AVNI

Prishtinë, Janar 2026

UNIVERSITETI I PRISHTINËS “HASAN PRISHTINA”

FSHMN – Departamenti i KIMISË



Punimi i diplomës MASTER

FABRIKIMI I NJË IMUNOSENZORI KAPACITATIV PËR
PËRCAKTIMIN E METOTREKSATIT BAZUAR NË
DEPOZITIMIN SHITESË-PËR-SHITESË TË NANOTUBAVE
TË KARBONIT TË DOPUARA ME FILMA TË HOLLË TË
POLIPIRROLIT/POLITIRAMINËS MBI ELEKTRODAT E
PRINTUARA TË ARIT

Kandidatja

BLERINA OSMANAJ
BERISHA

Mentori

Prof. Dr. AVNI

Prishtinë, Janar 2026

UNIVERSITY OF PRISHTINA “HASAN PRISHTINA”

FMNS – Department of CHEMISTRY



MASTER Diploma Thesis

FABRICATION OF CAPACITIVE IMMUNOSENSOR FOR
METHOTREXATE DETECTION BASED ON
LAYER-BY-LAYER CARBON NANOTUBE DOPED
POLYPYRROLE/POLYTYRAMINE THIN FILM SCREEN
PRINTED GOLD ELECTRODE

Candidate

BLERINA OSMANAJ
BERISHA

Mentor

Prof. Dr. AVNI

Abstrakt

Gjatë disa dekadave të fundit, mungesa e një pajisjeje analitike të saktë, të shpejtë, me kosto të ulët dhe jashtëzakonisht të ndjeshme, e cila mundëson monitorim në kohë reale dhe në pikën e nevojës të barnave citostatike për kancer dhe të kimioterapisë së personalizuar, ka përbërë një nevojë të pazgjidhur. Për të adresuar këtë sfidë, ky projekt synon zhvillimin e një imunosensori kapacitiv të miniaturizuar për detektimin e metotreksatit në mostra të serumit njerëzor.

Sipërfaqja e sensorit u prodhuan përmes elektropolimerizimit shtresë-pas-shtrese të polipirrolit të dopuar me nanotuba karboni dhe politiroaminës mbi një elektrodë të printuar me ekran ari (Au-SPE). Antitruapat poliklonalë ndaj MTX u imobilizuan në mënyrë kovalente mbi shtresën Au-SPE/polipirrol i dopuar me nanotuba karboni/politiroaminë, përmes aminimit reduktiv duke përdorur glutaraldehidin si lidhës kryq. Antitruapat MTX u përdorën si elementë biorekognitivë për kapjen specifike të metotreksatit në mostra klinike, ndërsa albumina e serumit bovin (BSA) u aplikua për të bllokuar vendet e adsorbimit jo-specifik.

Imunosensori i përbërë Au-SP/PPY-CNT/PTA-MTXAb/BSA u karakterizua duke përdorur metoda të ndryshme spektroskopike dhe elektrokimike. Platforma Au-SP/PPY-CNT/PTA-MTXAb/BSA u zhvillua për detektimin e metotreksatit si në solucion buferik PBS, ashtu edhe në serum gjaku njerëzor. Zbulimi i MTX u monitorua me spektroskopin e impedancës elektro-kimike jo-faradaike (EIS). Sensori tregoi ndryshime të qarta dhe të varura nga përqendrimi i MTX si në rezistencën e transferimit të ngarkesës, ashtu edhe në kapacitet.

Imunosensori shfaq një gamë të gjerë dinamike lineare nga 40 nM deri në 20 μM dhe një ndjeshmëri prej $13.20 \cdot \mu\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ për MTX. Limiti i detektimit (LOD) dhe ai i përcaktimit sasior (LOQ) ishin përkatësisht 0.004 μM dhe 0.04 μM . Të dhënat e marra nga matjet EIS treguan se performanca analitike e imunosensorit kapacitiv Au-SP/PPY-CNT/PTA-MTXAb/BSA është superiore për zbulimin e MTX, në krahasim me sensorët e tjerë të raportuar në literaturë.

Imunosensori i zhvilluar paraqet potencial të lartë si pajisje portative për monitorim të shpejtë të niveleve të metotreksatit gjatë kimioterapisë.

1 Hyrje

Metotreksati (MTX), i njohur edhe si acidi N-[4-[[[(2,4-Diamino-6-piridinil)metil]metilamino]benzoil]-L-glutamik, është një ilaç antineoplastik i përshkruar për trajtimin e kancerit dhe sëmundjeve autoimune [1]. Figura 1 paraqet strukturën kimike të metotreksatit. Kimioterapia me dozë të lartë me metotreksat (HD-MTX) ka qenë efektive në trajtimin e disa llojeve të kancerit, siç janë leukemia akute limfoblastike, karcinoma e gjirit, koriokarcinoma dhe sarkoma osteogjenike [3][4]. MTX absorbohet pas administrimit parenteral dhe përqendrimi maksimal në serum ndodh brenda 30 minutave pas injektimit intramuskular, ndërsa 1 deri në 2 orë pas administrimit oral [5]. Megjithatë, MTX i mbetur në organizëm shkakton disa efekte anësore kërcënuese për jetën, siç janë çrregullimet gastrointestinale, çrregullimet hepatike, dermatiti, çrregullimet hematologjike dhe pneumonia nefrotoksike [6], [7], [8], [9]. Gjithashtu, diapazoni efektiv i përqendrimit të terapisë me MTX është i kufizuar në një dritare terapeutike relativisht të ngushtë [2]. Duke pasur parasysh toksicitetin e HD-MTX dhe kohëzgjatjen e gjatë të kimioterapisë, është vitale të monitorohet në mënyrë kontinuale niveli i MTX gjatë kimioterapisë [10]. Nivelet nominale të serumit të MTX për të minimizuar incidencën e efekteve anësore konsiderohen të jenë nën $5.0 \mu\text{M}$ pas 24 orësh, 0.5 deri në $1.0 \mu\text{M}$ pas 48 orësh dhe $0.05 \mu\text{M}$ pas 72 orësh të administrimit të MTX. Kufiri toksikologjik është midis 0.08 dhe $0.1 \mu\text{M}$ [11].

Metodat tradicionale për monitorimin e niveleve të MTX në serum bazohen në teknikat kromatografike të tilla si kromatografia e lëngshme me performancë të lartë (HPLC) dhe kromatografia e gazit (GC) e shoqëruar me spektrometri të masës (GC/MS) dhe sisteme imunotestesh me bazë enzimatoke [12]. Megjithatë, këto teknika tradicionale përdorin instrumente të shtrenjta dhe të sofistikuara, kanë një kohë të gjatë analize dhe nuk janë të përshtatshme për monitorim në kohë reale, pra pranë shtratit të pacientit. Zhvillimi i një instrumenti të miniaturizuar të thjeshtë, të lehtë për t'u përdorur, të ndjeshëm, selektiv dhe me kosto efektive për monitorimin e pikës së nevojës (PON) të MTX në kimioterapinë klinike është shumë i dëshiruar [13].

Imunosensorët elektrokimikë janë të përshtatshëm për të përmbushur kërkesën për monitorimin në kohë reale të MTX. Imunosensorët elektrokimikë matin ndryshimet në daljen e sinjalit elektrik që vijnë nga reaksionet imunologjike antitrop-antigjen në ndërfaqen biosensorike. Daljet e sinjalit elektrik të matur përfshijnë rrymën (senzor amperometrik), potencialin (senzor voltametrik), transferimin e rezistencës ndaj

ngarkesës (senzor impedimetrik) dhe kapacitetin (senzor kapacitiv). Midis këtyre teknikave, sensorët elektrokimikë impedimetrikë dhe kapacitivë janë më të përshtatshëm për PON dhe monitorimin në kohë reale të barnave citostatike siç është MTX [14]

Modifikimi kimik i elektrodave është jetik për përmirësimin e biokompatibilitetit, selektivitetit dhe ndjeshmërisë së imunosensorëve elektrokimikë [14]. Elektrodën e modifikuar me polimer janë shfaqur si transduktorë aktivë premtues për ndjeshmërinë elektrokimike për shkak të përçueshmërisë së lartë elektrike, biokompatibilitetit dhe sipërfaqes së zgjeruar elektroaktive. Modifikimi kimik me polimere përçuese si polianilina, politiofeni dhe polipiropiloli janë realizohet shpesh duke shpër në një sjellje pseudokapacitive faradaike. Polipiropiloli (PPY) ka avantazhin e sjelljes së lartë pseudokapacitive redokse krahasuar me polimerët e tjerë. Megjithatë, sjellja e përsëritur e fryrjes-turrjes së PPY gjatë procesit të dopaminimit dhe ç'dopimit jonik rezulton në dëmtime strukturore gjatë cikleve të aplikimit të potencialit elektrokimik. Materialet me bazë karboni si nanotubat e karbonit, grafeni dhe karboni i aktivizuar me një sjellje kapacitive me dy shtresa përdoren shpesh si agjent stabiliteti strukturor për të përmirësuar performancën e PPY. Një përbërje e materialeve CNT/PPY mund të ofrojë një kapacitet specifik më të lartë sinergjik.

Përveç polimerëve përçues, polimerët jopërçues si politiramina dhe polifenilendiaminat janë materiale izoluese elektrike që janë përdorur me sukses për imobilizimin e elementëve të ndjeshëm siq janë enzimët dhe antitruapat. Polimeri jopërçues elektropolimerizohet lehtësisht në sipërfaqet e elektrodave për të prodhuar një film të hollë polimeri. Polimerët jopërçues ofrojnë avantazhe mbresëlënëse, selektivitet të shkëlqyer dhe riprodhueshmëri të lartë, përveç shumicës së meritave tjera të raportuara të polimerëve përçues [15]. Tiramina u zgjodh për shkak të grupeve të saj amine të varura për imobilizimin kovalent të biomolekulave në sipërfaqen e elektrodës [16], [17], [18].

Në vitet e fundit, elektrodën e shtypura me ekran (SPE), me kosto të ulët dhe lehtësi e shpejtësi prodhimi masiv duke përdorur teknologjinë e filmit të trashë, janë përdorur gjerësisht për zhvillimin e sipërfaqeve të reja (elektrokimike) me kosto të ulët dhe sipërfaqe miniaturë me nivel të lartë të ndjeshmërisë [19]. Gjithashtu, është vërtetuar se AuNP-të kanë përçueshmëri të shkëlqyer elektrike, një sipërfaqe të madhe specifike dhe biokompatibilitet të lartë [20], [21].

Në këtë projekt kërkimor, u zhvillua një ndërfaqe e re ndjeshmërie e bazuar në elektroda ari të shtypura me ekran, të modifikuar elektrokimikisht me film

nanokompozit polipiropoli/politiramine të dopuar me nanotuba karboni (Au-SP/CNT-PPY/PTY). Imobilizimi kovalent i antitropit MTX (MTX_{Ab}) u arrit nëpërmjet grupeve amine të politiraminës për të arritur Au-SP/CNT-PPY/PTA/MTX_{Ab} dhe u përdor si një platformë e re për imunosensorizimin elektrokimik label-free të MTX.

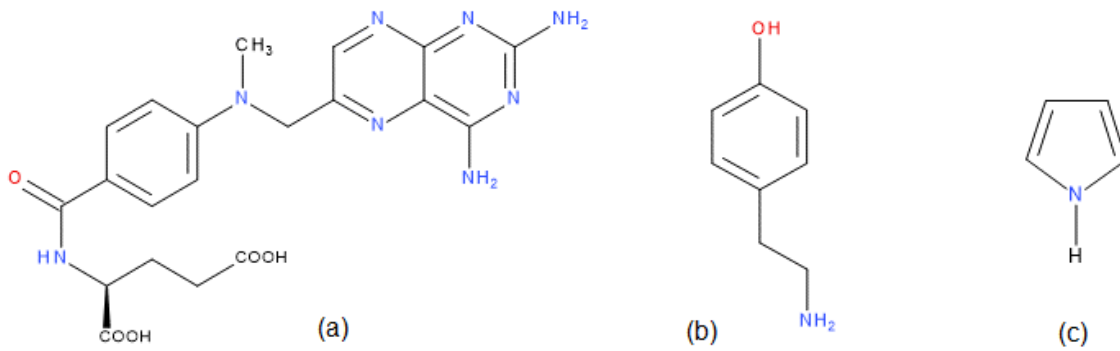


Figura 1. Strukturat e (a) Metotreksatit, (b) tiraminës dhe (c) pirolit.